

Université de La Réunion  
Institut de Recherche pour le Développement  
UMR ENTROPIE - *Ecologie MariNe TROPicale des océans Pacifique et IndiEn*

**Thèse de Doctorat**  
**Département Sciences, Technologies et Santé**  
**Spécialité écologie marine et bio-géochimie**

Présentée par  
**Antoine RIOU**

---

**Exploration analytique de la microchimie fine de l'otolithe  
pour l'écologie et l'étude de la gestion des stocks des  
poissons coralliens de l'île de La Réunion.**

---

Thèse soutenue le 26 janvier 2016 devant le jury composé de :

Pr. H. BRUGGEMANN, président du jury	Université de La Réunion, UMR ENTROPIE
Dr J. PANFILI, rapporteur	IRD, UMR MARBEC
Pr M. POTIN-GAUTIER, rapporteur	Université de Pau et du Pays de l'Adour
Dr P. CHABANET, directrice	IRD, UMR ENTROPIE
Dr K. POTHIN, co-directrice	Réserve Naturelle Marine de La Réunion
Dr E. TESSIER, examinateur	HydroRéunion
Dr G. BAREILLE, invité	Université de Pau et du Pays de l'Adour



« Vis comme si tu devais mourir demain. Apprends comme si tu devais vivre toujours. »

**Mahatma Gandhi**

**A mon fils, Thomas.**

## REMERCIEMENTS

---

Je remercie tout d'abord la Région Réunion et l'Europe qui, en m'octroyant une allocation régionale de Recherche, m'ont permis de mener à terme cette étude au sein de l'Université de La Réunion. Je tiens également à exprimer mes remerciements à l'Université de La Réunion pour son accueil et son encadrement ainsi qu'à l'école doctorale de l'Université de La Réunion pour son efficacité.

Je tiens à porter également mes remerciements aux directions de mes deux tutelles. A l'Institut de Recherche pour le Développement de La Réunion d'une part, en les personnes de M. Borgel puis de Mme Chabanet et à la Réserve Naturelle Nationale Marine de La Réunion d'autre part, en les personnes de M. Tessier, de Mme Issop-Mamode et de Mme Pothin. Je vous remercie pleinement d'avoir mis pendant toutes ces années les moyens nécessaires à la réalisation de ces travaux. Je remercie également Claude Payri pour son accueil au sein de l'unité de recherche, d'abord CoRéUs puis devenue ENTROPIE.

Un énorme merci à mes deux directrices, Pascale Chabanet et Karine Pothin, qui ont été là pour me donner le courage nécessaire de mener jusqu'au bout ce travail, qui m'ont laissé la liberté de prendre en main les otolithes et surtout, de m'en avoir donné les moyens. Merci également de m'avoir permis de vivre cette expérience de recherche pleinement et de m'avoir laissé prendre part dans toutes les facettes de la vie d'un doctorant, membre d'un institut, membre d'une équipe.

Un merci inestimable à Gilles Bareille pour tout ce travail de collaboration mené depuis 2009 et ton investissement sans relâche.

La Recherche n'est rien sans une équipe administrative rigoureuse, réactive et efficace. Pour cela, un grand merci à Florence Ousenie, Anabelle Huynh, Françoise Hale, Stéphanie Neibecker, Laurence Thiercelin et Benoit Soyer à l'IRD et à Stéphanie et Christine à la RNMR.

Une grande partie de ces données n'auraient pu être acquises sans l'aide sans faille de toute l'équipe de terrain de la RNMR : Christophe, Yanick, Willy, Sully, Bertrand, Jérôme et Jérôme. Un grand merci également à l'équipe communication et sensibilisation, Bruce, Guillaume et Tévamie, qui ont su m'épauler quand il le fallait. Le travail de terrain n'aurait pas pu être possible sans la tête pensante du projet qui pilotait ces 24 mois de collecte, Adeline Collet. Je remercie avec elle toute l'équipe de l'ARDA qui a piloté ce projet POLARUN : Rémi Dardare, Jérémie et l'équipe d'aquariologie.



Il est impensable d'oublier la jeunesse de la recherche, force vive du quotidien, qui a contribué en qualité de stagiaire à ce travail : Alexis Puech, Stella Dubernet, Marina Tomadin, Yannick Foucher et Anne-Gaëlle Payet. Merci pour vos travaux rigoureux et également pour votre aide matinale et crépusculaire sur le terrain aux côtés des volontaires : Julie, Clément, Hélène, Benjamin, Pauline, Bénédicte, Sophie, Ronan, Stéphanie, Brice, Delphine, Charlotte, Thomas, Valérie, Estelle, Guillaume, Emilie, Myrtille, Erwan, Morjane, Julien, Hugo, Lola, Karine, Myriam, Aurélia et tous les autres moussaillons.

Merci également à l'équipe de l'Ifremer, Jérôme Bourjea et Delphine Muths en particulier pour m'avoir permis d'accéder à plus d'échantillons et ainsi donner une profondeur à cette étude. Merci également à Géraldine Criquet pour avoir partagé ses connaissances à mon arrivée.

Un grand merci à toute l'équipe de l'IRD qui a façonné mon quotidien, apportant leur soutien régulier d'une équipe : Marc, Pascal, Gwen, Frédéric, Erwann mais aussi Nicolas, Ulrich, Anita, Anne, Evelyne, Myriam, Estelle, Antonin, Manuella et Stéphanie.

Un énorme merci au cercle familial toujours à l'écoute et toujours là pour ne pas oublier d'aller au bout des choses. A mes parents, qui m'ont accompagné dans chacun de mes choix depuis le début afin de m'aider à construire cette rampe de lancement pour me mener le plus loin possible. Merci pour leur soutien jusqu'au bout et ceci malgré une distance parfois pesante. Merci à ma compagne qui m'a également soutenu jusqu'au bout dans ces travaux dignes d'une longue gestation...

Enfin, que serait ce manuscrit sans tous les petits hasards successifs, les choix, les pointes d'audaces qui jalonnent nos vies pour nous mener aujourd'hui à être là où nous sommes, sans pouvoir savoir vers où nous nous dirigeons, mais qui nous montrent à quel point la vie n'est que le résultat de ce que nous choisissons d'en faire à chaque instant. Le chemin parcouru est lumineux, celui à découvrir est rayonnant.

Travaux réalisés avec le soutien financier de La Région Réunion, de l'Europe, l'IRD (UMR ENTROPIE), La Réserve Naturelle Marine de La Réunion et le CNRS – LCABIE de l'Université de Pau et du Pays de l'Adour.

## SOMMAIRE

---

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>14</b>
<b>CHAPITRE I      METHODOLOGIE GENERALE</b>	<b>20</b>
I.1      Sites d'étude	20
I.1.1      Océan Indien	20
I.1.2      Île de La Réunion	23
I.1.3      Madagascar, Maldives et Iles Eparses	30
I.2      Espèces cibles	31
I.2.1 <i>Acanthurus triostegus</i>	31
I.2.2 <i>Epinephelus merra</i>	32
I.2.3 <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i>	33
I.3      Paramètres biologiques	34
I.3.1      Biométrie	34
I.3.2      Otolithes	34
I.3.3      Analyse de l'environnement	49
I.3.4      Analyse des données	50
<b>CHAPITRE II      VARIATIONS DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES OTOLITHES A LA REUNION</b>	<b>52</b>
II.1      Utilité de la chimie des otolithes pour déterminer les histoires de vie d' <i>Epinephelus merra</i> à La Réunion	52
II.2      Synthèse	72

<b>CHAPITRE III</b>	<b>SPECIFICITE ET TEMPORALITE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES OTOLITHES</b>	<b>76</b>
III.1	Programme POLARUN	76
III.1.1	Méthodologie	77
III.1.2	Caractérisation des flux larvaires	83
III.2	Etude spatiale et temporelle de la composition microchimique des otolithes d' <i>Acanthurus triostegus</i> et <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> à La Réunion	88
III.3	Synthèse	120
<b>CHAPITRE IV</b>	<b>PERTINENCE DU BARYUM DANS LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES</b>	<b>122</b>
IV.1	A La Réunion	122
IV.1.1	Histoire des larves d' <i>Epinephelus merra</i> lors d'un recrutement exceptionnel dans la baie de Saint-Paul (Ile de La Reunion)	123
IV.1.2	Synthèse	142
IV.2	Dans l'océan Indien	143
IV.2.1	Diversité de la microchimie des otolithes d' <i>Epinephelus merra</i> à Madagascar, aux Maldives et Iles Eparses	143
IV.2.2	Synthèse	147
<b>CHAPITRE V</b>	<b>LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES, UN OUTIL D'AIDE A LA GESTION ?</b>	<b>150</b>
<b>RÉFÉRENCES</b>		<b>158</b>
<b>RESUME</b>		<b>172</b>

## PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES DANS LE CADRE DE LA THESE

---

### Publications scientifiques

**RIOU A.**, BAREILLE G., MORAT F., POTHIN K., BRU N. and CHABANET P. 2016. The usefulness of otolith chemistry to determine the life history of the honeycomb grouper around Reunion Island (SW Indian Ocean). *Fisheries Research* 179, 104-114.

**RIOU A.**, BAREILLE G., POTHIN K., BRUN N., PECHEYRAN C. and CHABANET P. Variability in larval histories of reef fish species at Reunion Island. *Fisheries Research* (soumis, 2016)

**RIOU A.**, BAREILLE G., POTHIN K., PECHEYRAN C. and CHABANET P. 2015. *Epinephelus merra* larval histories during an exceptional mass-settlement event (Reunion Island). *Cybium* (en préparation)

### Colloque scientifiques

**RIOU A.**, BAREILLE G., POTHIN K., CHABANET P., 2013. Variability of early life histories of tropical reef fish at Reunion Island (South West Indian Ocean). *Western Indian Ocean Marine Science Association*, 8th Scientific Symposium, 28<sup>th</sup> October– 1<sup>st</sup> November (Maputo, Mozambic). Oral.

**RIOU A.**, BAREILLE G., POTHIN K., CHABANET P., 2013. Comparaison saisonnière otolithométrique de post-larves d'*Acanthurus triostegus* et de *Plectroglyphidodon imparipennis* sur l'île de La Réunion (Sud-Ouest de l'océan indien). Pistes de réflexions pour la gestion adaptée à une ressource exploitée au sein d'une aire marine protégée. Colloque de sclérochronologie, 2<sup>nd</sup> – 4<sup>th</sup> July 2013 (Rennes, France). Poster.

BAREILLE G., TABOURET H., **RIOU A.**, AMILHAT E., POTHIN K., MARTIN J., PECHEYRAN C., BERAİL S., CHABANET P., TESSIER E., LECOMTE-FINIGER R. SASAL P., MARY N., MEUNIER F. 2012. L'histoire de vie des poissons vue sous l'angle de la microanalyse chimique des otolithes (Sr : Ca, Ba : Ca, 87Sr : 86Sr) : intérêt de la connaissance de la géochimie des milieux aquatiques. *Ve Rencontres de l'ichtyologie en France*, 27<sup>th</sup> – 30<sup>th</sup> march (Paris, France). Oral

**RIOU A.**, POTHIN K., BAREILLE G., CROCHELET E., TESSIER E., CHABANET P. 2012. Otolith analysis on fish larvae, a tool for coral reef fish management at Reunion Island (South West Indian Ocean). *36<sup>th</sup> Annual Larval Fish Conference*. 2<sup>nd</sup> – 6<sup>th</sup> July (Bergen, Norway). Oral.

**RIOU A.**, POTHIN K., BAREILLE G., CROCHELET E., TESSIER E., CHABANET P., 2012. Otolith microchemistry for life history in La Réunion (SO OI). 12<sup>th</sup> International Coral Reef Symposium (Cairns). Speed talk accepted.

**RIOU A.**, BAREILLE G., POTHIN K., TESSIER E., LECOMTE-FINIGER R., CHABANET P., 2011. Using otolith chemistry to infer life history of the grouper *Epinephelus merra* (Reunion Island, SO Indian Ocean). Western Indian Ocean Marine Science Association, 7<sup>th</sup> Scientific Symposium, 24<sup>th</sup> – 29<sup>th</sup> October (Mombasa, Kenya). Poster.

#### Communication pour un large public

LEVIEUX G., **RIOU A.** 2012. Les poissons parlent avec leurs oreilles. *Espèces*, n°4.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Carte de localisation des sites d'études dans l'océan Indien : La Réunion, Les Maldives, les Iles Eparses (Juan De Nova, Europa) et Madagascar (Sainte-Marie).....	21
Figure 2: Le système des moussons dans l'océan Indien (Guyomard <i>et al.</i> 2006). ....	22
Figure 3: Représentation des courants de surface dans l'océan Indien en régime de mousson d'été (A) et de mousson d'hiver (B). Les différents courants de surfaces sont nommés d'après leur localisation et leur orientation: le courant Equatorial Sud (SEC), Les courants Nord-Est et Sud-Est Malgache (NEMC and SEMC), Le courant des Côtes Est Africaine (EACC), Le Courant des Somalies (SC), Les Gyres du Sud (SG) le Grand Tourbillon (GW), le Courant de Mousson du Sud-Ouest (SMC), le courant de Leeuwin (LC), le Contre-Courant Sud Equatorial (SECC), le Courant de Mousson de Nord Est (NMC) et le Courant du Sud de Java (SJC). (Schott <i>et al.</i> 2002). ....	23
Figure 4: Carte du cumul des précipitations sur l'année 2012 à l'île de La Réunion (MeteoFrance 2012).....	24
Figure 5: Situation géographique de l'île de La Réunion. Principaux biotopes littoraux sous-marins rencontrés sur le pourtour de l'île.....	25
Figure 6: Coupe d'un récif corallien frangeant. Les différentes parties constituantes sont indiquées (D'après Montaggioni & Faure 1980; Lieske & Myers 2005). ....	26
Figure 7: Vue sous-marine du récif corallien de La Réunion (site de la grande ravine).....	27
Figure 8: Paysage sous-marin en baie de Saint-Paul, île de la Réunion. Quelques structures abandonnées offrent un habitat aux poissons coralliens. ....	27
Figure 9: Zones de réglementation de la Réserve Naturelle Marine de La Réunion (Source DIREN) ...	29
Figure 10: <i>Acanthurus triostegus</i> (Photo Alexandre Prévot).....	31
Figure 11: <i>Epinephelus merra</i> (Randall 1997).....	32
Figure 12: <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> (Randall 1997).....	33
Figure 13: Schéma de la position des otolithes à l'intérieur de la capsule céphalique des téléostéens (A) et dans l'oreille interne (Modifié d'après Secor <i>et al.</i> 1992). ....	35
Figure 14: Schéma des coupes de l'otolithe provenant de la gauche de l'encéphale (D'après Pannella 1980).....	35
Figure 15: Photographie d'une section d'otolithe de <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> où apparaissent les marques journalières de croissance (Flèches). ....	36
Figure 16: Schéma du taux d'incorporation de quelques éléments de l'environnement à l'otolithe à travers les 3 barrières physiologiques (Campana 1999).....	38
Figure 17 : Photographies de l'extraction de la paire de sagittae d'un <i>Acanthurus triostegus</i> . A : séparation du corps et de la tête. B : Dissection de la tête pour accéder aux otolithes. C : localisation des otolithes dans leur capsule otique. D : Otolithes extraits dans un bain d'eau distillée pour nettoyage. E : Otolithe extraits, nettoyés et séchés. F : Stockage de la paire d'otolithe. ....	39
Figure 18 : Représentation schématique du dispositif LA-ICPMS utilisé pour l'ablation (en orange) et la mesure (en bleue) de la composition chimique des otolithes au LCABIE de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (Modifié d'après Pecheyran). ....	42
Figure 19 : Cellule d'ablation de 3,7 cm <sup>3</sup> utilisée au LCABIE (D'après Martin 2013).....	43
Figure 20 : Schéma de l'effet de l'interaction laser/matière avec a) un laser nanoseconde et b) un laser femtoseconde (Bado <i>et al.</i> 2006). ....	44
Figure 21 : Protocole de préparation des otolithes pour leur analyse microchimique (D'après Tabouret 2009) ....	47
Figure 22: Map of the sampling sites around Reunion Island, in the southwestern Indian Ocean.....	57

Figure 23: Time series of Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), Mn:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), Sr:Ca ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ) Mg:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) and Na:Ca ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ) corresponding to three clusters for one year old <i>E. merra</i> from four Reunion island reef sites ; a) cluster 1, b) cluster 2, c) and d) cluster 3. Note that figures a and d showed enriched Ba:Ca peaks during the PSP. Gray area delimit the three different fish life periods, namely the core (embryonic development) to the left, the pelagic larval life period (PLP) corresponding to the gray area, and the PSP corresponding to the juvenile life following settlement within the back-reef zone. ....	62
Figure 24: a) correlation circle on the first factorial plane with variables introduced into the PCA, b) representation of the three clusters on the map induced by the first two principal components obtained by PCA. ....	63
Figure 25 Mean (SD) microchemical signatures associated with the three observed clusters (HCA) for the core and the PLP for one year old <i>E. merra</i> from four reef sites. a) Ba:Ca in $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , b) Mn:Ca in $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , c) Sr:Ca in $\text{mmol mol}^{-1}$ , d) Mg:Ca in $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , e) Na:Ca in $\text{mmol mol}^{-1}$ . Similar letters or symbols refer to significant difference at the 0.05. ....	64
Figure 26: Contribution (%) into the four reef sites (SG, SL, ES, SP) of the three clusters representing specific source and dispersal history. ....	69
Figure 27: Care© de la société Ecocéan en fonctionnement et amarré. ....	77
Figure 28: Localisation des stations de prélèvement de larves de poisson sur le site de Saint-Gilles (SG1, SG2 et SG3) et le site de Saint-Paul (SP1, SP2 et SP3). ....	78
Figure 29: Calendrier des nuits de prélèvements (en bleu) des larves par piège lumineux type CARE autour de chaque nouvelle lune (disque noir) lors des 25 sessions entre le mois de mars 2011 jusqu'au mois de février 2013 ....	80
Figure 30: Cumul des précipitations sur un mois enregistrées par les stations automatiques type RADOME de Météo France de février 2011 à mars 2013 a) Au Port, b) à l'Ermitage. ....	82
Figure 31: Echelle des courants appréciés à la pose des filets. ....	83
Figure 32 : Effectifs des captures d' <i>Acanthurus triostegus</i> et <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> pendant les 25 campagnes de prélèvement du programme POLARUN sur les sites de Saint-Gilles et Saint-Paul. Les mois en bleu correspondent à la période de la saison des pluies (de janvier à mars ; J F M) et les mois en jaune correspondent à la période de la saison sèche (de mai à novembre ; M J J A S O N). ....	85
Figure 33 : Distribution des effectifs échantillonnés chez <i>Acanthurus triostegus</i> et <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> . ....	87
Figure 34 : a) Correlation circle on the first factorial plane with variables (chemical ratios in the core-C and the pelagic larval phase-L) introduced into the Principal Component Analysis and b) representation of the three clusters on the map induced by the first two principal components for <i>Acanthurus triostegus</i> individuals samples from the two sites during winter and summer 2011 and 2012. Circle, triangle and cross correspond to the cluster 1, 2 and 3 respectively. ....	100
Figure 35 : a) Correlation circle on the first factorial plane with variables (chemical ratios in the core-C and the pelagic larval phase-L) introduced into the Principal Component Analysis and b) representation of the three clusters on the map induced by the first two principal components for <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> individuals samples from the two sites during winter and summer 2011 and 2012. Circle, triangle and cross correspond to the cluster 1, 2 and 3 respectively. ....	100
Figure 36 : Mean (SD) microchemical signatures ( $\text{mmol mol}^{-1}$ or $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) associated with the three observed clusters (HCA) for the core and the pelagic larval phase (PLP) for <i>Acanthurus triostegus</i> a) Ba:Ca, b) Sr:Ca, c) Mg:Ca, d) Mn:Ca, and mean (SD) pelagic larval duration (PLD in days). ....	102
Figure 37 : Mean (SD) microchemical signatures ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) associated with the three observed clusters (HCA) for the core and the pelagic larval phase (PLP) for <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> a) Ba:Ca, b) Sr:Ca, c) Mg:Ca, d) Mn:Ca, and mean (SD) pelagic larval duration (PLD in days). ....	103

Figure 38 : Different patterns of otolith Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) time series reported for <i>Acanthurus triostegus</i> . Type I: low Ba:Ca during the entire larval life period; Type II: low Ba:Ca during the core and early PLP, late PLP peak in Ba:Ca ratio; Type III: low core Ba:Ca ratio, moderate and varying Ba:Ca ratio during the PLP; Type IV: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, low Ba:Ca ratio during late PLP; Type V: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, peak of Ba:Ca ratio during late PLP. Arrows correspond to the location of the primordia. ....	105
Figure 39 : Different patterns of otolith Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) time series reported for <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i> . Type I: low Ba:Ca during the entire larval life period; Type II: low Ba:Ca during the core and early PLP, late PLP peak in Ba:Ca ratio; Type IV: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, low Ba:Ca ratio during late PLP; Type V: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, peak of Ba:Ca ratio during late PLP. Note that Type III was not found for this species. Arrows correspond to the location of the primordia. ....	106
Figure 40: Variability in the Ba:Ca water chemistry at the two sampling sites over one year, including summer 2012/2013. Graph below represents a focus on summer 2012/2013 under the influence of cyclonic events. ....	113
Figure 41: Schematic representation of the five different patterns of otolith Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) time series reported for both species, with special emphasis onto larval histories according to low and high Ba:Ca during the core and pelagic larval phase (PLP). ....	116
Figure 42: Comparaison des moyennes des rapports Sr:Ca, Ba:Ca, Mg:Ca et Mn:Ca pour le centre (core) et la PLP entre les individus de 2007 attribués au cluster 2 (Mn:Ca et Sr:Ca faible, Ba:Ca décroissant depuis la zone centrale) et au cluster 3 (Mn:Ca, Sr:Ca et Ba:Ca faibles tout au long de la vie), et les individus collectés en 2008. ....	131
Figure 43: Exemples de profils élémentaires (Ba:Ca, Sr:Ca et Mn:Ca) de deux individus <i>Epinephelus merra</i> récoltés en baie de Saint-Paul (à gauche) et de deux individus collectés en 2007 à Saint-Pierre et Saint-Leu et affectés au cluster 2 (Mn:Ca et Sr:Ca faible, Ba:Ca décroissant depuis la zone centrale) et au cluster 3 (Mn:Ca, Sr:Ca et Ba:Ca faibles tout au long de la vie). La zone grisée correspond à la zone du nucléus et le carré en pointillé à la période d'incubation dans le centre d'expérimentation (ARDA). ....	132
Figure 44: Rapports moyens en Sr:Ca, Ba:Ca, Mn:Ca et Mg:Ca dans les otolithes d' <i>Epinephelus merra</i> au centre de l'otolithe (core), pendant le début de la phase larvaire pélagique (PLP), la fin de la phase larvaire et la phase d'incubation en aquarium dans le centre d'expérimentation (ARDA). ....	133
Figure 45: Comparaison des rapports Ba:Ca, Sr:Ca et Mn:Ca des eaux marines (Saint-Gilles, baie de Saint-Paul) en condition normale, pendant les cyclones (Saint-Paul) et des eaux d'incubation des juvéniles <i>E. merra</i> dans les aquariums du centre d'expérimentation (ARDA). ....	134
Figure 46: Composition chimique en Ba:Ca, Sr:Ca et Mn:Ca de la nourriture donnée aux juvéniles d' <i>E. merra</i> au cours de l'incubation dans les aquariums de l'ARDA. ....	135
Figure 47: Synthèse sur les incubations d' <i>E. merra</i> dans les aquariums de l'ARDA : changement de concentrations du Ba, Sr et Mn entre la nourriture, l'eau et les otolithes. ....	139
Figure 48 : carte des sites de prélèvement des <i>Epinephelus merra</i> à l'échelle de l'océan Indien de l'Ouest. ....	144
Figure 49 : ratio moyen des éléments traces mesuré dans les otolithes ramené au calcium en $\mu\text{g/g}$ (Rubidium 138, Baryum 138, Cuivre 63, Manganèse 55, Zinc 66, Lithium 7, Magnésium 25 et Strontium 86) des individus prélevés à Europa, Juan De Nova, Madagascar, et aux Maldives. ....	145
Figure 50 : profils élémentaire types des <i>E. merra</i> capturés à Juan De Nova, Europa, Madagascar, aux Maldives et à La Réunion basés sur leur teneur en Ba:Ca en $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ . ....	146





## INTRODUCTION GENERALE

---

### LES ENJEUX DE L'OTOLITHOMETRIE A LA REUNION

Dans un monde en pleine croissance démographique, la gestion des ressources alimentaires est un enjeu majeur. Il est alors essentiel de maintenir un équilibre entre le renouvellement des ressources et leur exploitation. Dans ce but, les paramètres qui interviennent dans la régénération des stocks sont nombreux. Chez les populations ichthyologiques, ils se situent principalement lors des phases dispersives des espèces. Il est cependant rare que ces paramètres soient connus pour chacune des espèces, seules les tendances générales des cycles de vie des organismes marins le sont. Ainsi, localement, certaines questions pourtant essentielles pour la connaissance de la régénération des populations restent en suspens : d'où proviennent les poissons exploités ? Où vont-ils ? Ont-ils tous la même histoire ? Quelles connexions peuvent-ils entretenir avec des populations voisines ?

Chez les poissons associés aux récifs coralliens, la phase pélagique est une étape de dispersion importante dans l'écologie d'une espèce (Doherty et al. 1985; Shulman & Bermingham 1995) : elle va permettre à une espèce d'être ou non connectée avec d'autres populations (Roughgarden et al. 1988; Caley et al. 1996). Comprendre les mécanismes de la phase larvaire est alors un élément essentiel à la construction de la dynamique des populations pour mettre en place une gestion adaptée (Cowen & Sponaugle 2009; Sale et al. 2010). Comment alors les mesures de gestion pourraient évoluer avec des connaissances plus fines sur l'histoire de vie des populations ichthyologiques locales ?

Travailler sur les histoires de vie des poissons des récifs coralliens est particulièrement délicat étant donné leur petitesse et la difficulté à les suivre pendant la phase pélagique ainsi qu'à identifier des zones d'intérêt comme les zones de pontes (Campana *et al.* 2000). Pour mieux cerner la vie des poissons, il existe un outil biologique adapté : des pièces calcifiées d'aragonite situées dans leur oreille interne, les otolithes. Connus chez les téléostéens depuis les années 1970, l'otolithe possède des propriétés remarquables :

- Les otolithes sont présents dès la naissance du poisson (Campana 1999).
- Leur croissance est continue tout au long de la vie de l'individu à un rythme journalier chez la plupart des espèces (Campana 1999).
- Ils ne subissent pas de résorption sauf en cas de stress extrême (Campana & Neilson 1985).

- Certains éléments chimiques du milieu peuvent être incorporés à la matrice otolithique (Campana 1999).

Ces propriétés leur confèrent de nombreuses applications qui évoluent au fur et à mesure que les techniques progressent (Campana 2005b).

- Estimation de l'âge et de la croissance. La lecture optique ou automatique des marques de croissances journalières (Morales-Nin et al. 2005) ou saisonnières (Panfili 1993; Arneri et al. 2001) permet d'estimer l'âge des individus afin de remonter à leur date de naissance. On estime ainsi la durée de vie larvaire, l'âge à la métamorphose, à la reproduction ou lors du passage d'un habitat à un autre ou d'une saison à une autre (Arai et al. 2000; De Casamajor et al. 2001; Taillebois et al. 2012). De plus, la mesure de la distance entre chaque marque de croissance permet d'estimer une vitesse de croissance à chaque instant de la vie du poisson.
- Discrimination des stocks. Elle peut être approchée par deux techniques analytiques. La forme globale de l'otolithe, résultante des aléas environnementaux et individuels, est une signature propre à chaque individu d'une même espèce. L'analyse des paramètres de cette forme (Russ 1990) permet de comparer l'origine géographique de plusieurs groupes d'individus et de discriminer un ensemble d'individus (Begg & Brown 2000; Tuset *et al.* 2003a; Tuset *et al.* 2003b). L'autre approche réside dans l'analyse de la composition élémentaire et/ou isotopique de l'otolithe. Elle peut se concentrer soit sur la zone natale pour déterminer l'origine géographique (Thresher 1999; Rooker *et al.* 2008; Correia *et al.* 2011; Thorisson *et al.* 2011), soit sur la phase pélagique pour déterminer les chemins de migrations des individus (Secor *et al.* 1995; Tsunagawa *et al.* 2010). Cette analyse peut se faire de façon relative avec la composition chimique comparée d'un individu à l'autre ou bien de façon absolue en mettant en relation les mesures chimiques avec celles mesurées dans l'environnement. Cette dernière permet alors de rattacher les individus à une localité (Gillanders & Kingsford 1996; Campana *et al.* 1999a; Thorrold *et al.* 2001).
- Traceurs de l'environnement. Le dosage des éléments chimiques peut apporter différentes informations sur l'environnement du poisson. Le rapport isotopique Sr:Ca peut être utilisé pour reconstruire l'histoire de la température (Townsend *et al.* 1995; Gallahar & Kingsford 1996; Elsdon & Gillanders 2002), tout comme ce rapport est le reflet indirect de la salinité du milieu (Secor *et al.* 1995; Edmonds *et al.* 1999; Elsdon & Gillanders 2002; Tsunagawa *et al.* 2010). Les analyses des éléments traces issus de l'activité anthropique peuvent également retracer les pollutions aquatiques (Gillanders & Kingsford 2003; Hamer *et al.* 2003; Halden & Friedrich 2008; Friedrich & Halden 2011; Limburg *et al.* 2011).

- Marquage d'individus. C'est une technique largement utilisée afin de suivre des mouvements migratoires ou de discriminer des animaux issus de l'élevage. Elle consiste à marquer un ensemble d'individus par des substances colorées ou par une très haute concentration d'éléments naturels qui se fixent sur l'otolithe. Lors d'une recapture, il est alors possible de visualiser ou mesurer cette marque sur l'otolithe (Munro et al. 2009; Locht et al. 2011; Woodcock et al. 2011).

Ainsi, lors de leur phase de dispersion, les larves peuvent traverser des habitats hétérogènes dus à des conditions environnementales changeantes (température, salinité, composition chimique de l'eau) dont les origines sont variées. Ces périodes, plus ou moins longues, peuvent influencer leur phénotype ainsi que la composition chimique élémentaire des otolithes. C'est la mise en évidence et l'interprétation de ces différences de compositions élémentaires qui permettent de mieux cerner l'histoire de vie des poissons.

Sur l'île de La Réunion, territoire français d'Outre-Mer du Sud-Ouest de l'océan Indien, les seuls travaux disponibles utilisant l'analyse de pièces calcifiées comme les otolithes (sclérochronologie) ont été initiés par Pothin (2005). Ces travaux, qui portaient sur l'analyse de la dispersion larvaire des poissons récifaux, ont révélé l'intérêt des otolithes dans l'identification de stocks de poissons via l'étude de la forme de l'otolithe et de leur composition chimique globale. Les conclusions de ces travaux menés sur le méro *Epinephelus merra*, espèce emblématique de la réserve naturelle marine de La Réunion, suggèrent un autorecrutement majoritaire de l'espèce. Mais beaucoup restait à faire pour mieux comprendre l'histoire des larves qui colonisent les récifs de l'île et ainsi, améliorer la gestion de cette espèce très exploitée par les pêcheurs traditionnels de l'aire marine protégée (AMP).

Au sein de ces espaces protégés, le but premier des gestionnaires est de favoriser une cohabitation plus harmonieuse entre un environnement naturel respecté et des activités humaines raisonnées. La dimension de « développement durable » prend tout son sens avec la prise en compte de la préservation et la gestion des espaces naturels en protection, la pratique raisonnée des usages et la dimension sociale et traditionnelle de ces usages. Le challenge des gestionnaires des AMP est alors de concilier les intérêts particuliers à l'intérêt général de protection et trouver un consensus entre préservation de l'environnement et influences anthropiques. Pour cela, la connaissance de l'environnement est un point essentiel à améliorer afin de trouver le bon équilibre par des mesures de gestion, fruit d'une concertation entre tous les acteurs du milieu (pêcheurs, plagistes, nageurs, promeneurs, plongeurs, surfeur, véliplanchiste, kyte-surfeur, etc...) et d'une forte implication des décideurs locaux.

Des travaux récents menés sur d'autres systèmes récifaux ont souligné le rôle de la variabilité des conditions environnementales rencontrées au cours de l'histoire de dispersion de larves sur leur qualité (i.e., fitness) lors du recrutement (Shima & Swearer 2010), qualité qui risque de conditionner leur survie au stade sub-adulte. De plus, des investigations par assignation génétique parentale ont souligné l'existence d'une grande variabilité au niveau de la dispersion larvaire dans l'espace comme dans le temps, l'autorecrutement et l'allo-recrutement pouvant contribuer chacun d'eux de façon importante, mais avec une grande variabilité spatio-temporelle selon les espèces (Almany *et al.* 2007; Berumen *et al.* 2010; Christie *et al.* 2010; Berumen *et al.* 2012; Harrison *et al.* 2012; Almany *et al.* 2013). Shima and Swearer (2009b; 2015) ont utilisé avec succès l'analyse de la composition chimique des otolithes pour montrer l'existence d'apports de larves de poissons récifaux de différentes origines et d'histoire de dispersion variée. Ces auteurs ont pour cela non pas utilisé une composition chimique moyenne de la vie larvaire, mais examiné l'évolution de cette composition au cours du développement larvaire sur des profils continus. Cependant, cette approche a été peu utilisée à ce jour en milieu strictement marin (Shima & Swearer 2009a; Shima *et al.* 2015).

Le succès de l'application de la microchimie des otolithes est très dépendant de la présence de zones de composition chimique contrastée dans le milieu naturel, du rôle du métabolisme et de la physiologie du poisson dans les processus d'incorporation des éléments aux otolithes (Patterson *et al.* 1999; Patterson *et al.* 2004c; Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Brown & Severin 2009; Miller 2011). Aussi, nous avons cherché à définir quels étaient les éléments répondant le mieux à ces critères et avons utilisé des éléments susceptibles de représenter des changements de conditions d'environnement de vie.

Dans ce travail, nous avons donc choisi d'utiliser la composition chimique des otolithes de plusieurs espèces de poissons récifaux en combinant les signatures géochimiques moyennes au cours des phases embryonnaire et larvaire et les enregistrements continus du rapport Baryum:Calcium, afin de déterminer des tendances générales de structure des populations et l'histoire détaillée de la dispersion larvaire.

Après avoir précisé les méthodes employées et décrit les sites d'études dans le **chapitre 1**, les différents travaux qui ont été menés sont présentés dans les chapitres 2, 3 et 4. Dans chacun de ces chapitres, une ou deux questions ont été ciblées comme suit :

**Chapitre 2 :** Existe-t-il des hétérogénéités environnementales susceptibles de se traduire par des signatures géochimiques significativement différenciées dans les otolithes de l'espèce emblématique de

mérou *E. merra* à l'échelle de l'ensemble de la région récifale de l'île de la Réunion ? Qu'apportent-elles pour mieux comprendre la structure spatiale de la population de ce mérou ?

**Chapitre 3 :** Les sources et trajectoires de dispersion de larves des espèces *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis* sont-elles stables temporellement ? Quels sont les déterminants de la variabilité temporelle ?

**Chapitre 4 :** Les variations du Ba:Ca proviennent-elles de changements dans la composition chimique du milieu ambiant ? Des évènements cycloniques exceptionnels à proximité de l'île de La Réunion jouent-ils un rôle important dans la dispersion de sources de larves ? La présence de changements dans le rapport Ba:Ca existe-t-elle à l'échelle de la région ouest de l'océan Indien ?

Enfin, toute la réflexion de cette thèse et les résultats marquants de cette thèse seront synthétisés dans le **chapitre 5**.



## CHAPITRE I      METHODOLOGIE GENERALE

---

Ce chapitre présente l'ensemble des sites d'étude et des méthodes communs à tous les aspects de l'étude. Après avoir présenté les différents sites qui interviennent tout au long de ces travaux, nous présenterons les trois espèces de poissons puis le principe des méthodes de mesures appliquées aux espèces ainsi que les principes d'analyses associés. Les plans d'échantillonnages ainsi que les techniques utilisées seront présentées au fur et à mesure des résultats dans un souci de fluidité de lecture.

### I.1 Sites d'étude

La présente étude se déroule dans l'océan Indien, sur différentes échelles spatiales. Principalement centrée sur La Réunion, l'étude implique également d'autres sites dans la région Ouest de l'océan Indien de l'Ouest.

#### I.1.1 Océan Indien

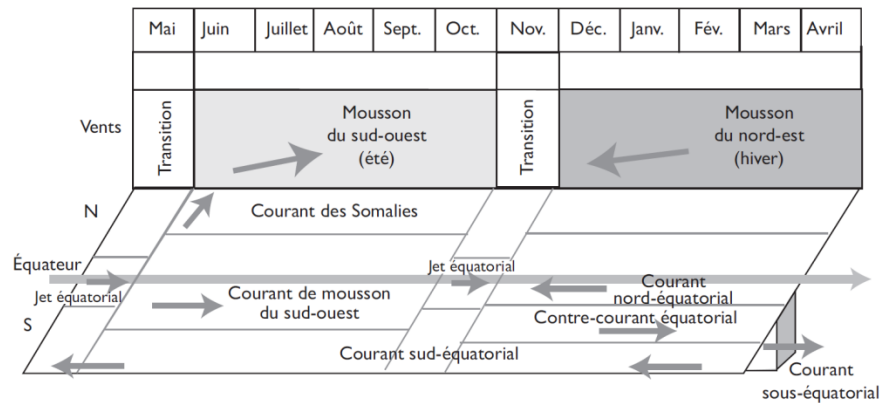
L'océan Indien est délimité par le continent asiatique au Nord, par l'Océanie à l'Est et par le continent africain à l'Ouest. Il communique directement avec l'océan Antarctique au Sud, avec l'océan Atlantique par le cap des Aiguilles d'Afrique du Sud et avec l'océan Pacifique par le cap South West de Tasmanie et à travers l'Océanie (Figure 1).





**Figure 1: Carte de localisation des sites d'études dans l'océan Indien : La Réunion, Les Maldives, les Iles Eparses (Juan De Nova, Europa) et Madagascar (Sainte-Marie).**

Au Nord, la présence du continent asiatique est à l'origine d'un basculement annuel des vents, c'est le régime des moussons. Ce régime spécifique est marqué par deux périodes distinctes qui ont pour conséquences de balancer les courants dominants d'Est en Ouest puis d'Ouest en Est au niveau de l'équateur. De décembre à avril, les vents de terre participent au développement du courant marin Nord équatorial (courant d'Est en Ouest vers le continent africain). De juin à octobre, le courant de mousson du sud-ouest domine dans la région équatoriale (Figure 2).

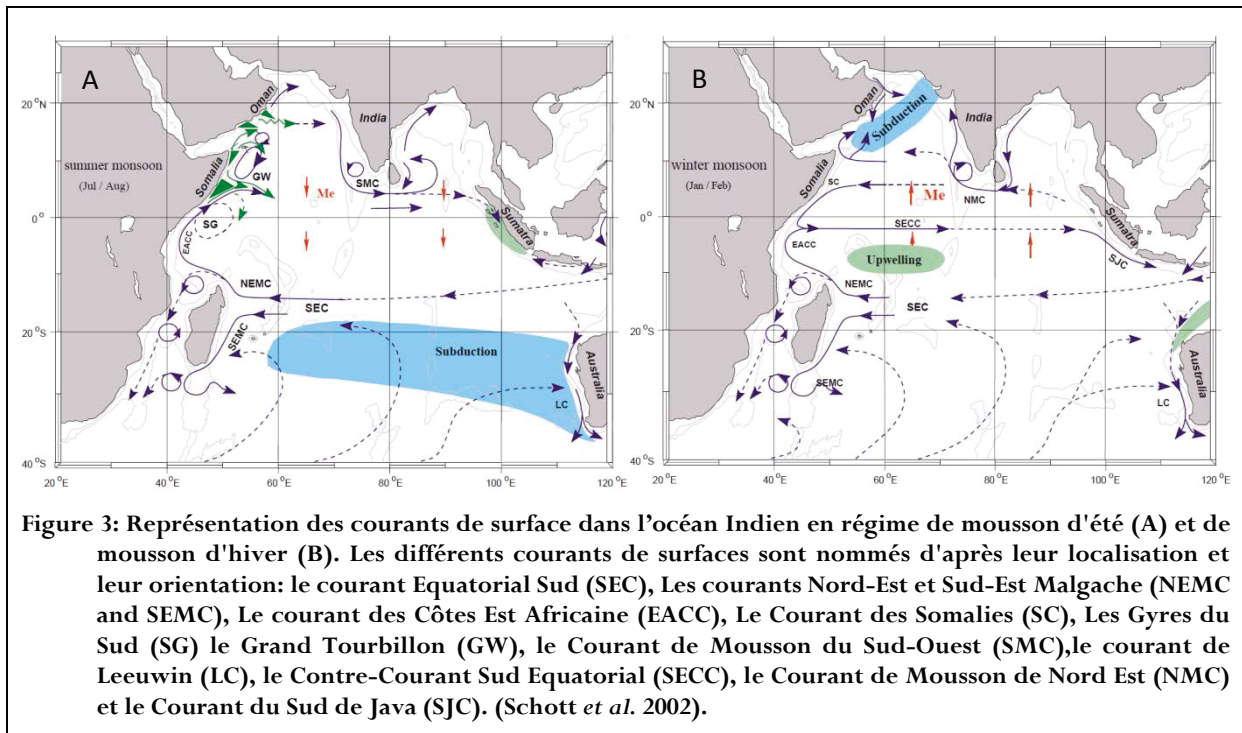


**Figure 2: Le système des moussons dans l'océan Indien (Guyomard *et al.* 2006).**

Dans la partie équatoriale et tropicale du bassin océanique indien, les courants marins de surface sont poussés par les alizées qui créent une dynamique globale d'Est en Ouest (Wyrski 1973). De part et d'autre du tropique du Capricorne, ces courants convergent du Nord et du Sud pour créer le courant sud équatorial. Ce flux de surface d'Est en Ouest se sépare au Nord du Canal du Mozambique (Tomczak & Godfrey 1994):

1) le courant du Mozambique longe la pointe Nord de Madagascar au niveau du Cap d'Ambre pour arriver aux Comores puis remonte vers le long des côtes africaines pour se transformer en courant Est africain. Dans le canal du Mozambique, le courant dominant résultant du Nord au Sud se décline par plusieurs gires tourbillonnantes.

2). Le courant Est malgache descend vers le Sud de Madagascar pour rejoindre le courant des Aiguilles où il se mêle au courant circumpolaire, entraînant une grande partie de ses eaux vers l'Est (Figure 3).



Ce régime général peut être localement perturbé par les cyclones qui surviennent entre novembre et avril. Ces phénomènes peuvent dévier les courants de surface sur une zone dont l'étendue dépend de l'intensité du cyclone (Crochelet 2010). La présence de nombreuses îles (Mascareignes, Comores, Seychelles, Iles Eparses) affecte également localement la courantologie par « effet d'île » qui selon l'intensité de la courantologie générale et le relief de l'île, peut concentrer les organismes marins dans la zone abritée du courant par l'île ou, si le courant est fort, peut entraîner l'effet inverse.

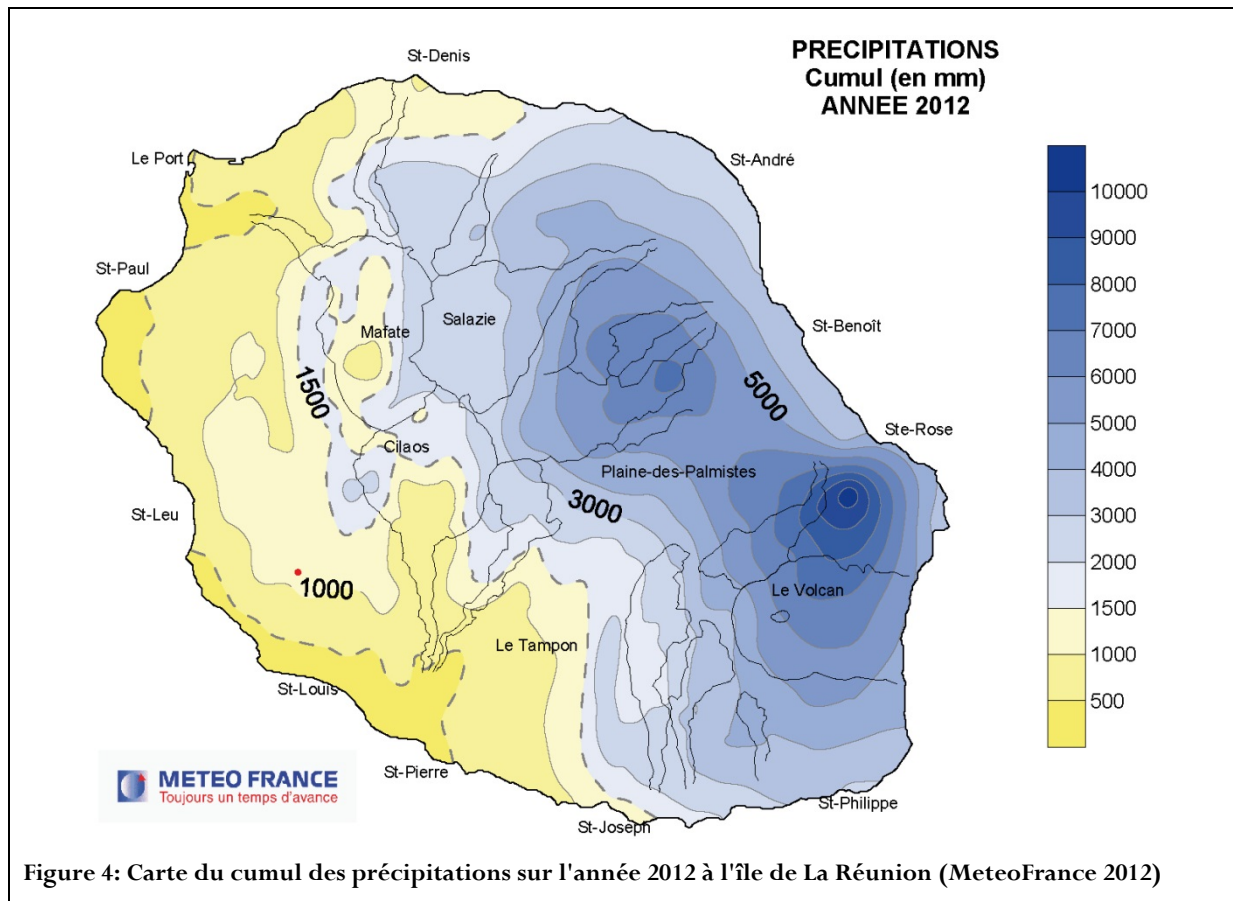
Dans sa partie occidentale, l'océan Indien regroupe de nombreuses îles, depuis les Maldives au Nord jusqu'à l'archipel des Mascareignes au Sud. Ces îles, regroupées le plus souvent en archipel, sont réparties sur 6 états : Maldives, Comores, Seychelles, Maurice (avec Rodrigues), Madagascar et la France avec Mayotte, les îles Eparses et l'île de La Réunion.

### I.1.2 Île de La Réunion

L'île de La Réunion se situe dans le secteur Sud-Ouest de l'océan Indien par 55°30' E et 21° S. Elle fait partie de l'archipel des Mascareignes qui regroupe l'île Maurice (170 km à l'Est) et l'île Rodrigues (800 km à l'Est) et se trouve à moins de 700 km de la côte Est de Madagascar. Construite à partir d'un point chaud du plancher océanique situé à 4 000 m de profondeur, cette île volcanique est formée de deux massifs : Le piton des neiges (3069 m, actuellement le plus haut sommet de l'océan Indien) apparu il y a 5 millions d'années s'est éteint il y a 12 000 ans alors que le piton de la fournaise

(2632 m), apparu à moins de 30 km au Sud-Est du piton des neiges 2 millions d'années plus tard, fait partie des volcans les plus actifs au monde. Toujours en évolution, l'île s'étend aujourd'hui sur 2512 km<sup>2</sup> pour un diamètre maximal de 70 km (Figure 1).

L'île est caractérisée par un climat tropical humide où la saison sèche de mai à octobre alterne avec la saison des pluies de novembre à avril. Sous l'influence des alizés, le relief important et accidenté de l'île est à l'origine de nombreux micro-climats et d'une sectorisation importante des précipitations. Ainsi, la côte Est de l'île exposée directement aux alizés enregistre une pluviométrie record comme au site de Takamaka où 7000 mm d'eau par an peuvent être enregistrés ou sur les pentes du Piton de la Fournaise (Barcelo *et al.* 1997), alors que la côte ouest, plus protégée des houles océaniques, est fréquemment soumise à des épisodes de sécheresse (Figure 4).

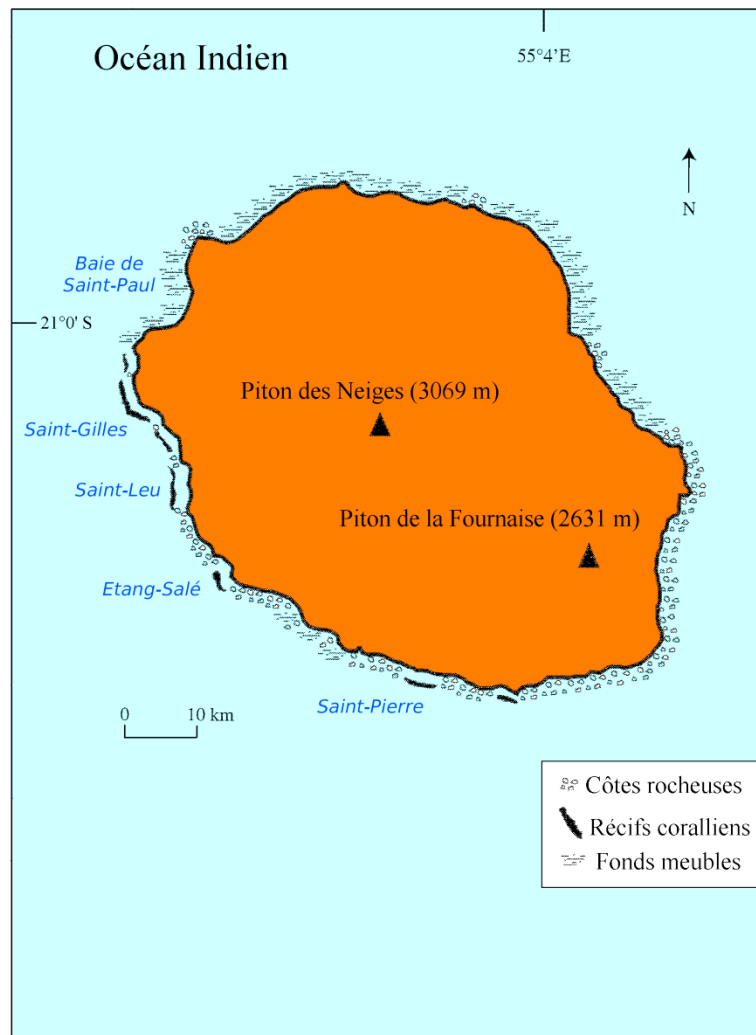


Ce phénomène va définir en grande partie la répartition des différents biotopes terrestres et marins.

La jeune île volcanique de La Réunion est entièrement formée de basalte issu de deux massifs volcaniques (Figure 5). Les reliefs de l'île sont souvent abrupts (cirques et caldeira) issus de l'effondrement de l'ancien cratère du piton des neiges mais également de l'érosion intense de sa surface

par des pluies tropicales parmi les plus importantes au monde (MeteoFrance 2012). Sur la bande littorale, 106 km de côte sont des falaises rocheuses et côtes rocheuses plates. Les 110km restant sont des zones sédimentaires faites de cordons de galets, de plages de sable noir basaltique de cordons littoraux alluvionnaires et pour 25km de linéaire, de plages de sables coralliens (BRGM 2006).

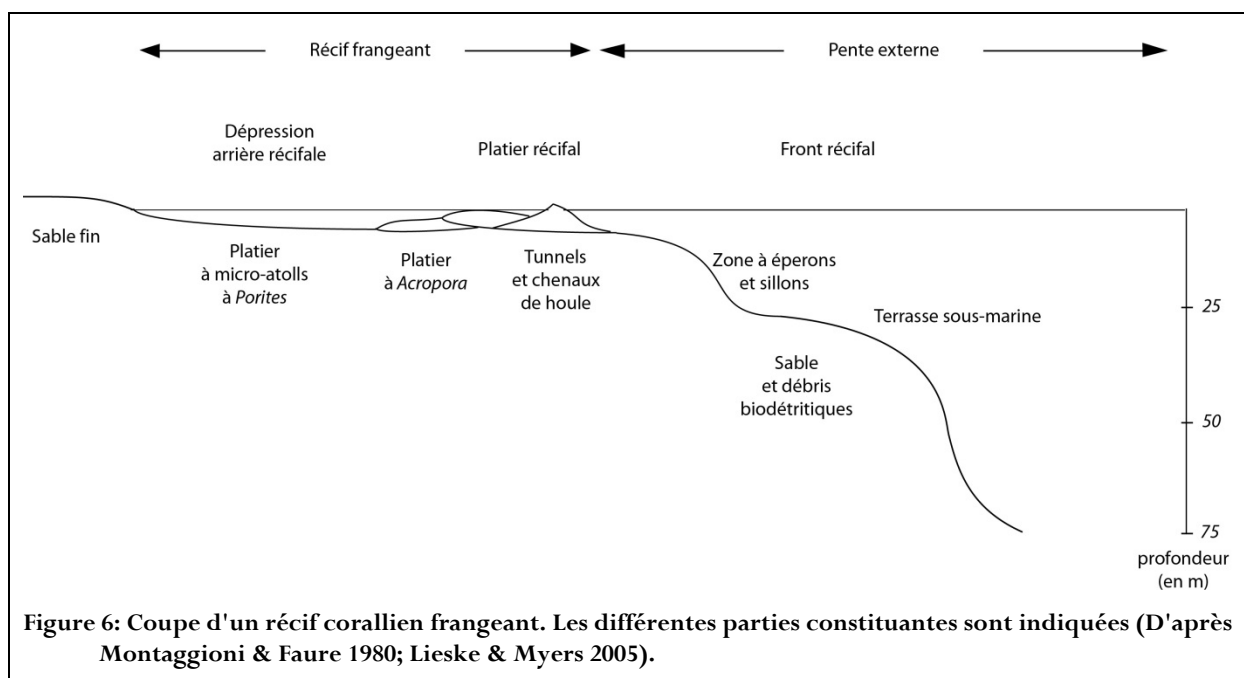
La présente étude s'est déroulée dans une zone sableuse, la baie de Saint-Paul et sur les 4 unités récifales de la côte Ouest. Nous nous intéressons alors à ces deux zones en particulier.



**Figure 5:** Situation géographique de l'île de La Réunion. Principaux biotopes littoraux sous-marins rencontrés sur le pourtour de l'île.

### I.1.2.1 Zones récifales

Les quatre récifs frangeants de l'île de La Réunion sont répartis sur la côte Ouest entre le Cap La Houssaye au nord et Grand Bois au Sud avec l'unité récifale de Saint-Gilles – La Saline (14 km de long, 300 m de large), le récif de Saint-Leu (7 km de long, 250 m de large), le récif d'Etang Salé (1 km de long, 250 m de large) et le récif de Saint-Pierre (3 km de long, 200 m de large). Ces jeunes récifs frangeants sont développés sur 12 km<sup>2</sup> et décomposés en trois unités géomorphologiques : la pente externe, le platier récifal et la dépression d'arrière récif. La pente externe est tournée vers le large. Toujours immergée, elle constitue la zone de croissance du récif corallien où les colonies croissent vers la lumière du soleil. Au plus près de la surface à près de 0,5 m à marée haute, le platier récifal est la partie horizontale du récif, bioconstruite à l'intérieur du récif frangeant. Le platier externe près du front récifal est soumis à un hydrodynamisme souvent violent en période de vent cyclonique et de fortes houles australes. La dépression d'arrière-récif, faisant suite au platier, correspond à une bande allant jusqu'à 300m de largeur principalement bio-détritique, parsemée de formations coralliennes (Figure 6).



Chacun de ces secteurs du récif corallien va jouer des rôles écologiques différents dans le développement des espèces en offrant un habitat et une complexité tels que la biodiversité marine va être maximale sur ces écosystèmes marins (Figure 7).



Figure 7: Vue sous-marine du récif corallien de La Réunion (site de la grande ravine)

#### I.1.2.2 Zones sableuses

La zone sableuse de Saint-Paul est une baie enclavée au nord des 4 principales formations coralliennes de l'île de La Réunion. Longue de 8km, elle est délimitée au nord par le banc récifal de la Pointe des Galets. Les fonds de la baie sont entièrement constitués de sable noir issu de l'érosion du basalte volcanique du plancher de l'île (Troadec 1991) offrant un paysage et un habitat pauvre pour les organismes (Figure 8). Les travaux de thèse de Troadec (1991) font état de différents courants dans la baie de Saint-Paul qui s'établissent en fonction du régime des vents dominants. Les courants de flots et de jusant sous l'influence des Alizés de Nord-Est sont associés à des vortex au centre de la baie sous l'influence des brises de terre. Cette courantologie peut alors être à l'origine d'un phénomène de rétention de larves dans ce secteur.



Figure 8: Paysage sous-marin en baie de Saint-Paul, île de la Réunion. Quelques structures abandonnées offrent un habitat aux poissons coralliens.



### I.1.2.3 Espace de gestion

Depuis 1997, l'association Parc Marin de La Réunion a mis en œuvre pendant 10 ans études et réunions de concertation pour travailler dans le sens d'une gestion raisonnée des récifs coralliens de l'île. Le périmètre de réglementation des activités a été réalisé et mis en place par la Direction Régionale de l'Environnement de La Réunion (DIREN Réunion) en février 2006. Depuis, l'association Parc Marin, devenue Groupement d'Intérêt Public Réserve Naturelle Marine de La Réunion (RNMR) en décembre 2007, est gestionnaire de cette réserve naturelle. Pendant les 15 années prévues de vie du GIP-RNMR, les communes ou collectivités des arrondissements de l'Ouest et du Sud peuvent intégrer le GIP, rejoignant ainsi les communes de Saint-Paul, Saint-Leu, Trois Bassins, Les Avirons et Etang-Salé qui chaque année, fixe leur part de financement du projet avec l'Etat et la Région Réunion.

Le cadre géographique de la Réserve marine se situe sur la côte Ouest de l'île, depuis le Cap La Houssaye au nord jusqu'à la roche aux oiseaux au sud (Figure 9). Elle concerne les littoraux des communes de Saint-Paul, Trois-Bassins, Saint-Leu, Les Avirons et Etang-Salé. Côté terre, la réserve s'étend jusqu'aux zones recouvertes par les eaux des plus grandes marées. Les limites extérieures en mer suivent grossièrement l'isobathe -50 m délimitant une zone d'environ 35 km<sup>2</sup> sur 40 km de linéaire côtier dont environ 20 km de récif corallien. Cette surface maritime est subdivisée en 4 couches de réglementations encadrant la pratique des activités maritimes :

- La zone 1, périmètre général à l'ensemble de la réserve interdit l'accès aux activités qui produisent des nuisances majeures : marcher sur le corail, ramasser des coraux et autres organismes provenant de la mer,, perturber la faune, abandonner des détritrus, provoquer des perturbations sonores, feux et tags, circulation de véhicules terrestres motorisés, rejets polluants, pêches destructrices, survol aérien à moins de 300 m, perturbations lumineuses, franchissement de la barrière, mouillage sur moins de 30 mètres de fond et les concours de pêche. D'autres activités restent réglementées.

- La zone 2A est une zone de protection renforcée où les activités agressives pour le milieu et les prélèvements sont interdits : circulation à moteur sur le récif, pêche sous-marine, pêche professionnelle ou de loisir et pêche à la ligne excepté la gaulette autorisée sur les côtes rocheuses et plage de sable noir. Une dérogation permet la pratique de la pêche traditionnelle à pied pour 800 personnes sur certaines portions des trois platiers de la RNMR. La découverte et la connaissance des richesses du récif (plongée sous-marine et activités de découverte du récif) sont également réglementées. La pêche professionnelle est réglementée et adaptée sur certaines portions de la barrière récifale (Zone 2B).



- La zone 3 interdit toute activité. C'est une zone sanctuaire de protection intégrale qui constitue un point de référence pour la résilience de l'écosystème face à l'absence d'activités.

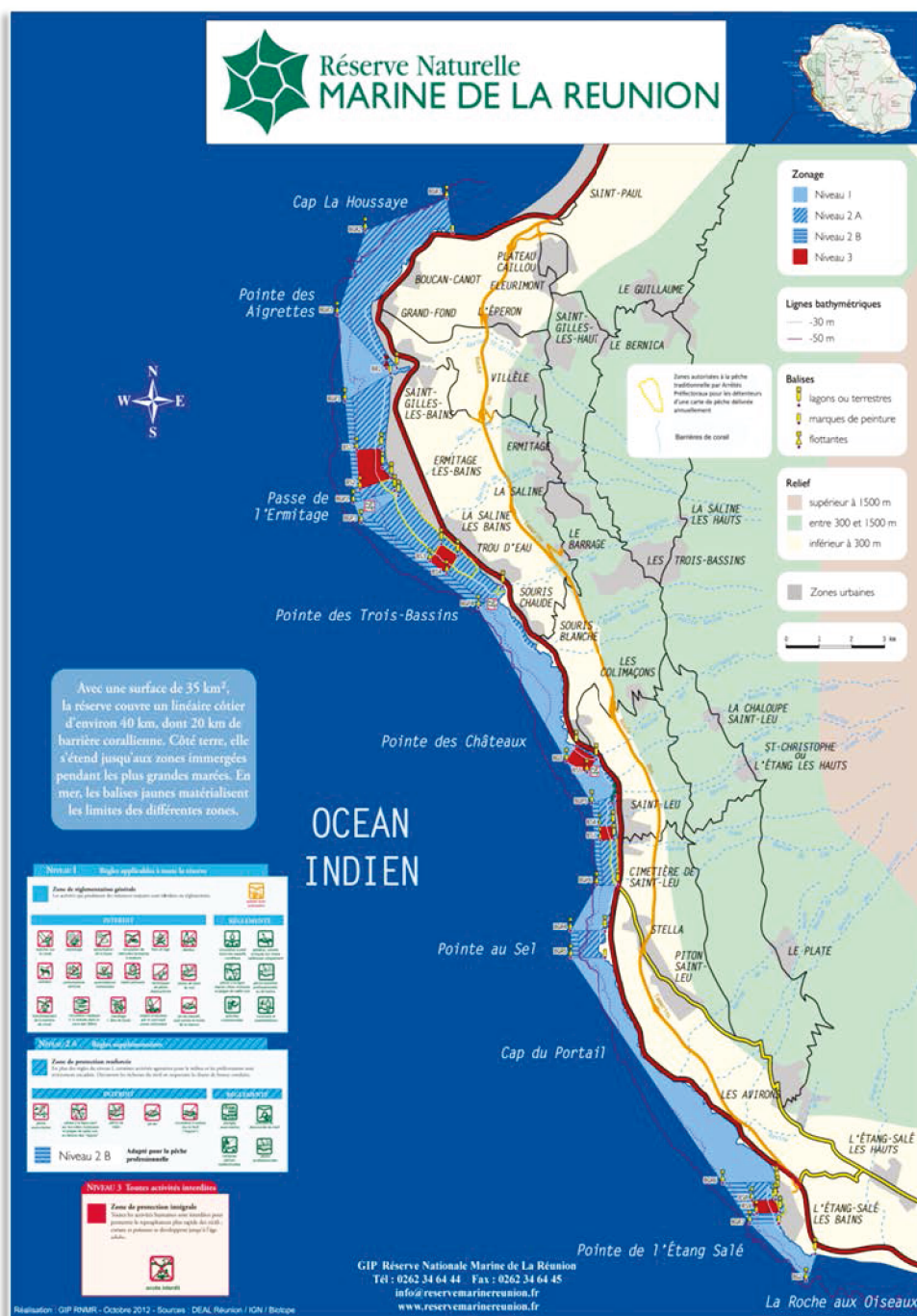


Figure 9: Zones de réglementation de la Réserve Naturelle Marine de La Réunion (Source DIREN)

### I.1.3 Madagascar, Maldives et Iles Eparses

Au terme de notre étude, nous souhaitons positionner nos résultats dans le contexte de celui de l'océan Indien. Pour cela, 4 sites sont sélectionnés dans l'océan Indien : Les Iles Eparses Europa et Juan De Nova, les Maldives et l'île de Sainte-Marie à Madagascar.

Les Iles Eparses sont un ensemble de cinq îles coralliennes réparties autour de Madagascar avec, à l'ouest dans le canal du Mozambique : Europa, Bassas da India, Juan de Nova, Glorieuses, et à l'Est de Madagascar, Tromelin (Figure 1). Regroupées sous la direction des Terres Australes et Antarctiques Françaises (TAAF), elles accueillent un petit groupe temporaire de militaires, gendarmes et météorologues. Ces terrains militaires isolés de toute activité humaine dans un rayon de 200 km constituent dans la zone de l'océan Indien de l'ouest des observatoires du changement climatique. En effet, ces îles représentent des sites de référence de milieux non perturbés. C'est dans ce sens que nous intéresserons aux îles de Juan de Nova et d'Europa. Ces deux îles possèdent une terre émergée ceinturée d'une barrière corallienne. Le lagon, plus vaste à Juan De Nova, abrite une biodiversité et biomasse des plus importantes dans l'océan Indien (Chabanet *et al.* 2015).

Les Maldives sont un archipel d'îles et atolls coralliens s'étendant du Nord au Sud dans le prolongement de la péninsule indienne sur 800km de longueur. La population se concentre sur quelques îles et vit principalement du tourisme et de la pêche. Cette activité est réglementée sur l'ensemble des fonds coralliens où l'exploitation par technique industrielle est interdite. Cela n'est cependant pas suffisant pour constater une diminution du nombre de prises et de leur taille. L'archipel des Maldives constitue un point de comparaison d'écosystèmes coralliens au stade atoll avec les Iles Eparses mais exploité de façon traditionnelle et soutenue.

A Madagascar, les ressources halieutiques sont très exploitées. Bordée sur la côte ouest de récifs coralliens, la 4<sup>ème</sup> plus grande île du monde abrite des ressources halieutiques pouvant être localement fortement exploitées. En revanche, les apports terrigènes faisant suite aux événements météorologiques (pluies cycloniques) et anthropiques (déforestation, extraction des coraux) sont plus nombreux que sur les îles Eparses et aux Maldives. Le site de Sainte-Marie, situé sur la côte Nord Est, représente alors un point de comparaison de l'étude pour écosystèmes ne subissant pas une forte pression de pêche mais étant affecté par une mauvaise gestion des activités humaines.

## 1.2 Espèces cibles

Dans chacun des sites d'étude, nous avons sélectionné trois espèces qui allient au mieux la représentativité des communautés de poissons récifaux, la quantité d'individu disponibles et leur distribution géographique dans la zone Indopacifique pour une meilleure comparabilité. Ainsi, 3 représentants des Ostéichthyens (Classe des Actinoptérygiens, Infra-Classe des Téléostéens, Super Ordre des Actinoptérygiens et Ordre des Perciformes) ont été choisis.

### 1.2.1 *Acanthurus triostegus*



Figure 10: *Acanthurus triostegus* (Photo Alexandre Prévot)

#### *Acanthurus triostegus*

Linnaeus, 1758

Famille des Acanthuridés

Herbivore

Chirurgien baignard ; Lonchan

*Acanthurus triostegus* (Figure 10) est une espèce tropicale très répandue sur tout le bassin Indopacifique. On le trouve dans les lagons, sur les pentes récifales et parfois aux abords des estuaires des rivières où il broute les algues (Randall 1986). D'une taille moyenne de 17 cm, il peut atteindre jusqu'à 27 cm (Krupp 1995). Très aplati latéralement, ses écailles gris clair virant sur le jaune sur son dos sont rayés de 6 bandes noires verticales dont 1 sur sa tête traversant ses yeux et 1 sur le pédoncule caudale qui cache une écaille érectile coupante (Randall 1956).

Les larves naissent d'œufs pélagiques et se métamorphosent en juvénile autour de 3,2 cm (Krupp 1995). Les juvéniles préféreront vivre en premier temps dans les eaux très peu profondes des lagons et même dans les cuvettes de marée. Une fois à maturité, autour de 7,5 cm, les individus s'agrègent pour émettre leur gamètes de façon synchronisée dans la colonne d'eau (Domeier & Colin 1997).

A La Réunion, cette espèce est occasionnellement exploitée par pêche traditionnelle pour une consommation personnelle (Fleury *et al.* 2012) et une revente à un prix moyen (Sumaila *et al.* 2007). Encore peu étudiée à La Réunion, elle fait néanmoins l'objet d'études internationales approfondies de par son abondance et sa large répartition à travers le monde.

### 1.2.2 *Epinephelus merra*



**Figure 11: *Epinephelus merra* (Randall 1997)**

#### *Epinephelus merra*

Bloch, 1793

Famille des Serranidés

Carnivore

Mérou gâteau de cire, macabit

*Epinephelus merra* (Figure 11) est une espèce tropicale commune présente dans l'Indopacifique. Ce petit mérou fréquente les lagons et les pentes externes des récifs coralliens jusqu'à 50 mètres de profondeurs. D'une taille moyenne de 19 cm et pouvant atteindre jusqu'à 31 cm (Lieske & Myers 2005), il est identifiable à sa peau beige parsemée de tâches hexagonales rouge-brun et beiges en alternance par bandes verticales qui s'arrondissent et se raréfient sur la face ventrale du corps et peuvent parfois se coller. Ces motifs lui permettent de se camoufler pour chasser à l'affut et échapper à ses prédateurs (Randall & Heemstra 1993; Taquet & Diringier 2007).

Espèce ovipare, les œufs fécondés et éclos donnent naissance à des larves pélagiques qui se métamorphosent au bout d'une soixantaine de jours en juvénile (Leis 1987; Jagadis *et al.* 2006). Une fois installés sur les récifs coralliens, les individus se développeront pour atteindre leur maturité sexuelle au bout de 3 à 5 ans, entre 18 et 20 cm en moyenne (Heemstra & Randall 1993; Bhandari *et al.* 2003; Bhandari *et al.* 2005; Bhandari *et al.* 2006). D'abord femelle, cette espèce hermaphrodite protogyne se transformera ensuite en mâle. Les individus matures se regroupent pendant les 3-4 premiers jours de pleine lune en saison de reproduction (Randall & Heemstra 1991; Heemstra & Randall 1993; Lee *et al.* 2002), entre janvier et avril à La Réunion (Bourjea *et al.* 2012). En dehors de cette saison, les individus solitaires et grégaires chassent à l'affut, le plus souvent la nuit. Il se nourrit principalement de crustacés et de poissons en proportion variable. Il peut même parfois devenir cannibale en période de raréfaction des ressources (Harmelin-Vivien & Bouchon 1976; Qunitio & Toledo 1991).

Espèce commune et très prisée par les réunionnais, elle représente 43 % des prises des pêcheurs traditionnels dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion entre 2008 et 2011 (Fleury *et al.* 2012) pour une consommation familiale et ou une commercialisation à un prix élevé, autour de 20 euros par kilo (Sumaila *et al.* 2007). Son abondance, sa place de prédateur dans la chaîne trophique et son intérêt patrimonial en fait une espèce d'intérêt scientifique pour les recherches menées à La Réunion (Letourneur *et al.* 1998; Durville 2002; Pothin *et al.* 2004; Riou 2009).

### I.2.3 *Plectroglyphidodon imparipennis*



**Figure 12:** *Plectroglyphidodon imparipennis* (Randall 1997)

#### *Plectroglyphidodon imparipennis*

Vaillant & Sauvage, 1875

Familles des Pomacentridés

Omnivore

Demoiselle aux yeux clairs

*Plectroglyphidodon imparipennis* (Figure 12) est une petite demoiselle de l'Indopacifique que l'on trouve uniquement sur les zones de déferlement des vagues des barrières récifales coralliennes, à proximité de petites cavités (Myers 1991). De petite taille, son corps de couleur gris clair terminé par un pédoncule caudal jaune peut atteindre jusqu'à 6 cm (Allen 1986). Seuls ses yeux sont rayés d'une bande noire verticale. Territoriale et omnivore, elle se nourrit d'algues.

Cette espèce a été très peu étudiée (Lobel 1997). Les larves naissent d'œufs fixés sur le substrat que le mâle a aéré et gardé pendant toute la période d'incubation (Breder & Rosen 1996). Peu de choses sont connues sur le développement des jeunes. En saison de reproduction, un couple mâle femelle se forme et protège sa progéniture jusqu'à éclosion.

### I.3 Paramètres biologiques

Cette étude a été rendue possible grâce à la collecte de matériel biologique par plusieurs équipes durant différents programmes de recherche. Les paramètres biologiques ont été étudiés à travers la biométrie des poissons et l'analyse de leurs otolithes.

#### I.3.1 Biométrie

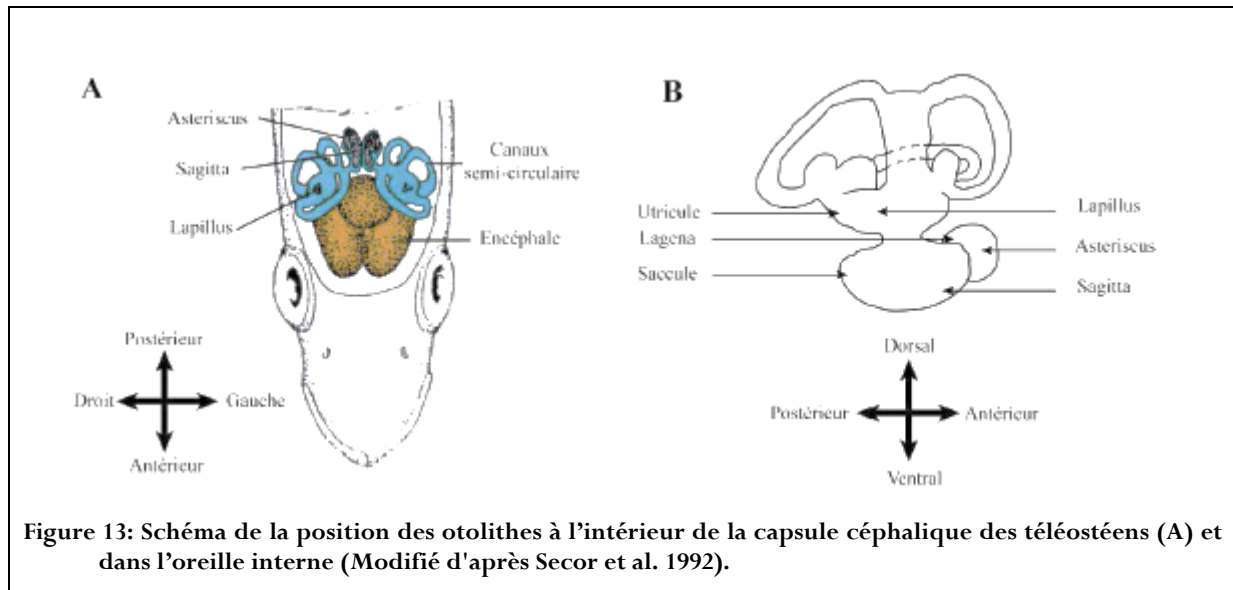
Afin de caractériser les poissons capturés, différents paramètres biométriques ont été relevés dans le but de caractériser la condition physique des individus à chaque étape de prélèvement. La masse de chaque poisson a ainsi été mesurée au milligramme près au moyen d'une balance de précision. La longueur standard (du museau à la fourche de la nageoire caudale), la longueur totale (du museau au bout de la nageoire caudale), et la hauteur maximale du corps ont été mesurées au millimètre près avec un pied à coulisse. Ces paramètres donnent ainsi un indice de l'embonpoint d'un individu et permet de le situer sur une courbe de croissance.

#### I.3.2 Otolithes

##### I.3.2.1 Généralités

Les otolithes (du grec *oto* : oreille et *lithos* : la pierre) sont des concrétions calcifiées situées dans les oreilles internes gauche et droite des poissons Téléostéens (Lecomte-Finiger 1999). Ils interviennent à la fois dans le système auditif mais surtout au sein du système vestibulaire qui renseigne le poisson sur sa situation spatiale et ses mouvements afin de maintenir son équilibre et sa position (Panfili *et al.* 2002a; Popper *et al.* 2005). Chaque oreille interne est un ensemble complexe de canaux reliant 3 compartiments remplis d'un liquide visqueux, l'endolymphe. Ces 3 cavités, le *sacculus* (sacculle), l'*utriculus* (utricule) et la *lagena*, sont constituées d'une macula sensorielle couverte par une membrane qui innerve l'otolithe. Elles contiennent chacune un otolithe, respectivement la *sagitta*, la *lapilus* et l'*astericus* (Wright *et al.* 2002). (Figure 13).





La *sagitta* est, dans la plupart des cas, le plus gros des 3 otolithes et apparaît en premier dans le développement des larves. C'est pourquoi, elle est très généralement utilisée dans la grande majorité des analyses otolithométriques (Panfili *et al.* 2002b). Dans la suite du document, pour plus de commodité, les *sagittae* seront couramment désignées par le terme générique « otolithes ».

Les otolithes ont une grande diversité de forme d'une espèce à l'autre (Popper *et al.* 2005), ce qui leur confère une première propriété à identifier les espèces dans les contenus stomacaux de prédateurs par exemple. Les paires d'otolithes sont souvent symétriques. Généralement compressées le long de l'axe dorso-ventral, la face concave est dite distale car orientée vers l'extérieur du poisson. Sa face interne proximale, convexe, est creusée par une gouttière appelée *sulcus acusticus* (sillon acoustique) servant de point d'insertion des nerfs reliés à la *macula* (Dunkelberger *et al.* 1980; Fay 1980; Platt & Popper 1981). De par cette forme particulière, les otolithes présentent trois plans d'orientation : sagittal, frontal et transversal. (Figure 14).

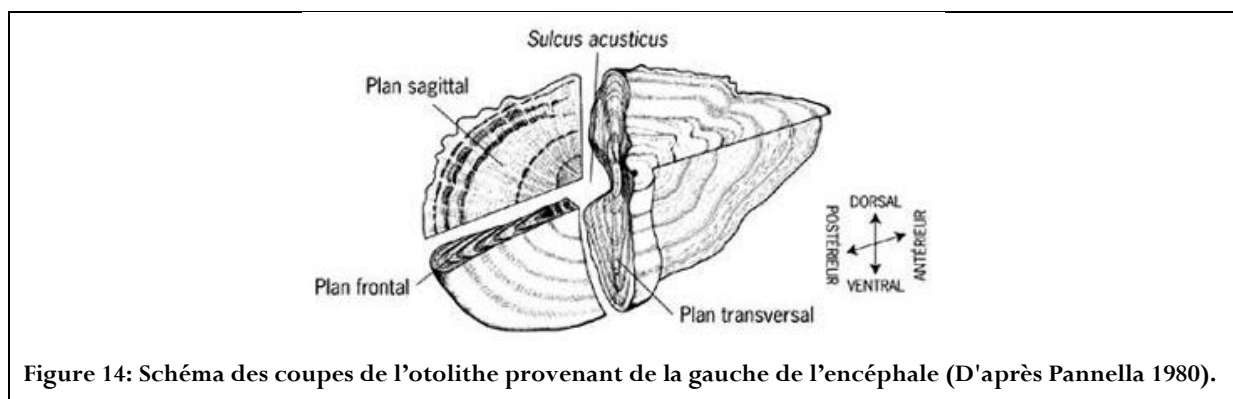
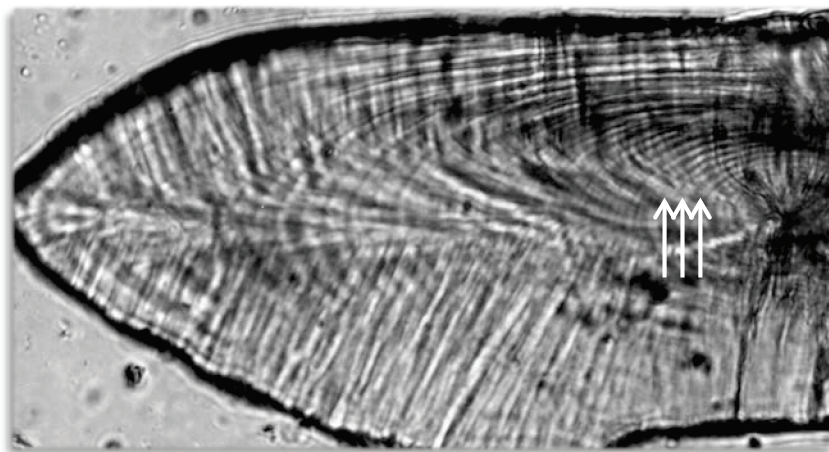


Figure 14: Schéma des coupes de l'otolithe provenant de la gauche de l'encéphale (D'après Pannella 1980).

L'otolithe se forme à partir d'un ou plusieurs primordium exocyté(s) lors de l'ontogénèse par les cellules épithéliales de l'oreille interne (Wright *et al.* 2002). Ils constituent la zone centrale de l'otolithe

à partir de laquelle va se construire l'ensemble de la pièce calcifiée par accumulation sur toute sa surface d'une couche protéique et minérale. Jour après jour, l'otolithe croît ainsi à la manière d'un bulbe d'oignon où chaque couche peut avoir une épaisseur et une régularité variables (Radtke & Dean 1982; Campana & Neilson 1985; Campana *et al.* 1987; Tresher *et al.* 1989; Lecomte-Finiger 1999). La vitesse de cristallisation à un instant  $t$  est conditionnée par la capacité de croissance globale de l'individu à ce jour, de l'environnement, de la nourriture disponible, son assimilation et de la physiologie de l'animal. Ainsi, on peut observer des structures d'accroissement qui diffèrent selon un rythme journalier, saisonnier ou annuel (Wright *et al.* 2002). Ceci se traduit par l'alternance de bandes opaques, résultat d'une cristallisation lente en période de repos, et de bandes translucides pour les périodes d'activité. Ces marques journalières peuvent être alors dénombrées sous lumière transmise afin d'estimer le nombre de jours qu'a vécu l'animal depuis sa naissance jusqu'à sa mort. A partir de plusieurs années de vie, un phénomène de tassement de la structure minérale peut rendre plus difficile la lecture des stries journalières. L'alternance saisonnière de la disponibilité en nourriture et du métabolisme général de l'animal devient alors le facteur principal traduit en marque de croissance annuelle : les zones sombres correspondent aux périodes de raréfaction de la nourriture et d'un métabolisme lent, alors que les zones plus claires correspondent aux saisons où le métabolisme reprend grâce à une nourriture plus abondante (Figure 15). Enfin, l'éclosion et la résorption du sac vitellin laissent chacune une marque sombre supplémentaire sur l'otolithe (Meekan *et al.* 1998) qui permet de les situer le long de l'otolithe.



**Figure 15: Photographie d'une section d'otolithe de *Plectroglyphidodon imparipennis* où apparaissent les marques journalières de croissance (Flèches).**

L'otolithe est constitué à 99% de cristaux de carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$  essentiellement sous forme de cristaux d'aragonite déposés sur une matrice organique protéique proche de la kératine, l'otoline (Degens *et al.* 1969; Campana & Neilson 1985; Gauldie 1990b; Lecomte-Finiger 1992; Gauldie 1993b, a). Ces cristaux peuvent parfois être synthétisés sous forme de calcite (Morales-Nin 1985) ou de vaterite (Gauldie 1990a, b), mais les processus amenant à la construction de cette matrice ne sont pas



encore totalement connus (Kalish 1993; Payan *et al.* 2004). Le cristal d'aragonite est métaboliquement inerte (Simkiss 1974; Mugiya 1984) et non sujet à la résorption (Campana 1983; Campana & Neilson 1985), sauf en cas de stress extrême (Mugiya & Tanaka 1989). Ainsi, l'otolithe nous est apparu comme la pièce calcifiée des ostéichthyens la plus adaptée aux objectifs sclérochronologiques que nous nous étions fixés dans cette étude, contrairement aux écailles qui peuvent être apparues à des moments non identifiés méthodologiquement au cours de la vie du poisson.

De Pontual (in Panfili *et al.* 2002b) fait état de 46 éléments identifiables au sein de l'otolithes. En fonction de leur concentration, les éléments sont majeurs ( $>100 \mu\text{g.g}^{-1}$ , Ca, C O), mineurs ( $<100 \mu\text{g.g}^{-1}$ , Na, Sr, K, S, Cl, Fe et P) ou traces ( $<10 \mu\text{g.g}^{-1}$ , Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Br, Co, Cd, Cr, Cs, Cu, Fe, Hg, La, Li, Mg, Mn, Mo, N, Ni, Pb, Ra, Rb, Se, Si, Sn, Th, Ti, Tl, U, V, Y, Zn, Zr). L'élément principal, le calcium, est présent à  $38,02 \pm 0,50 \%$  du poids de l'otolithe chez les espèces marines et  $40,72 \pm 1,82 \%$  du poids des otolithes chez les espèces d'eau douce (Campana 1999; Panfili *et al.* 2002b). La plupart des éléments inorganiques contenus dans les otolithes sont intégrés à l'otolithe, soit par combinaison avec les cristaux d'aragonite, soit grâce à la précipitation directe du carbonate de calcium et des éléments traces présents dans l'endolymph (Hanson & Zdanowicz 1997). Ils proviennent de l'eau environnante, à raison de 80 à 90% dans le cas du Ca, Sr et Ba pour les poissons d'eau douce (Farrell & Campana 1996) et marins (Walther & Thorrold 2006). La nourriture peut également influencer la composition chimique des otolithes (Limburg 1995; Ranaldi & Gagnon 2008; Marohn *et al.* 2009; Woodcock *et al.* 2012) ainsi que la température de l'eau, la salinité, le taux de croissance (Sadovy & Severin 1992; Thorrold *et al.* 1998a) et l'ontogénie (Kalish 1991).

Avant d'atteindre l'otolithe, les éléments chimiques doivent franchir plusieurs barrières biologiques (Figure 16). Les éléments contenus dans l'eau vont devoir franchir les branchies, et ceux contenus dans la nourriture vont franchir le système digestif, lieux de l'osmorégulation. Une fois dans le plasma sanguin, les éléments vont devoir franchir la barrière sang/endolymph pour entrer dans l'oreille interne, puis le phénomène de cristallisation entre l'endolymph et l'otolithe. A chaque barrière, les éléments peuvent subir des régulations qui leurs sont propres, et ceci différemment chez chaque espèce. D'après Campana (1999), il y a une perte globale de concentration élémentaire entre le milieu ambiant et l'otolithe.

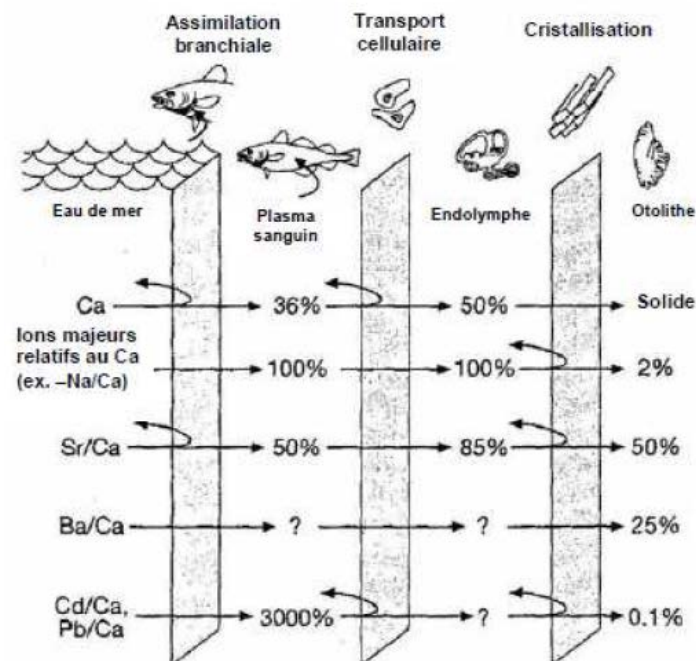
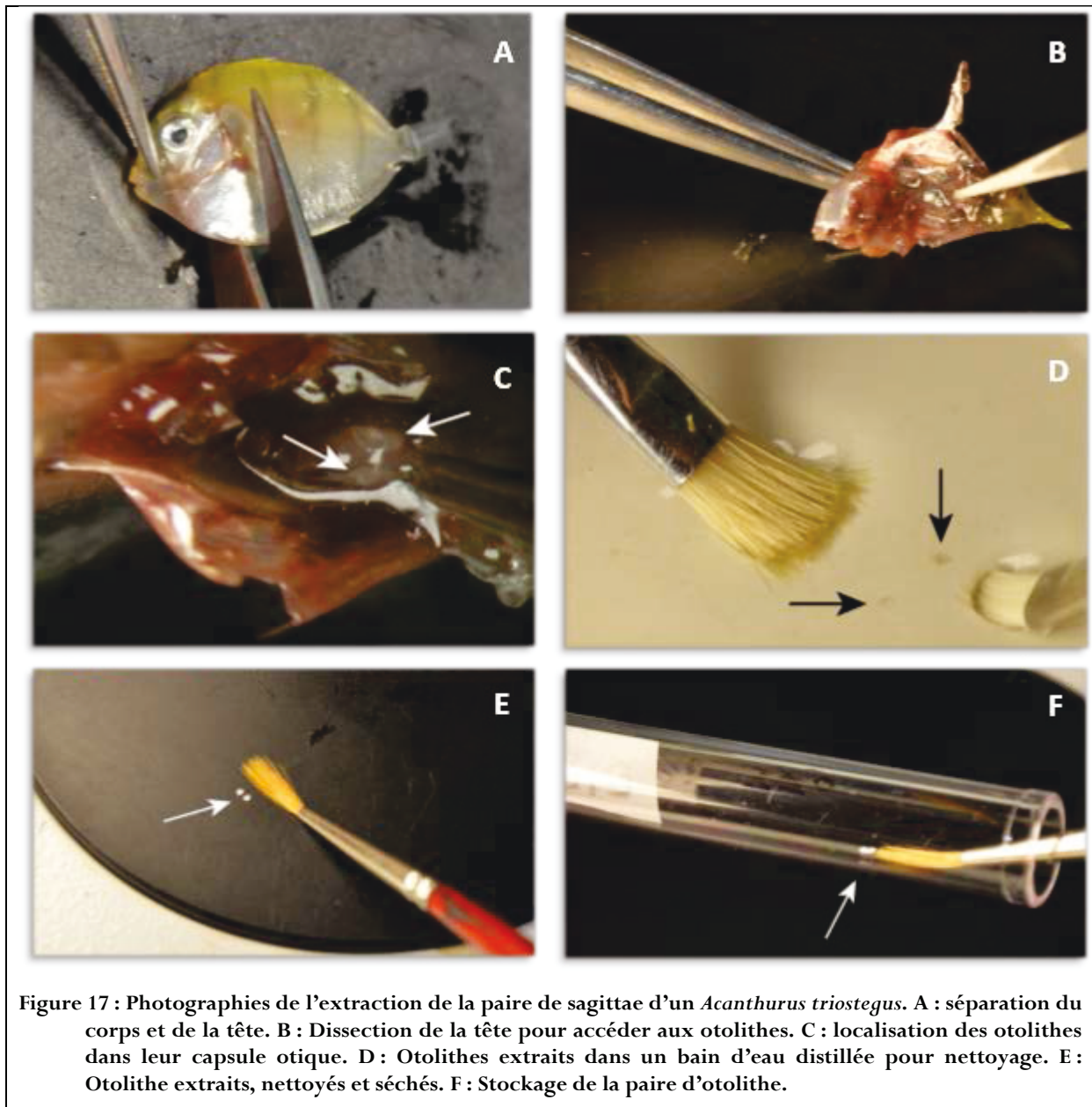


Figure 16: Schéma du taux d'incorporation de quelques éléments de l'environnement à l'otolithe à travers les 3 barrières physiologiques (Campana 1999).

Le ratio entre la concentration d'un élément dans l'environnement et celui mesuré dans l'otolithe forme le facteur d'enrichissement ou coefficient de distribution des éléments (DMe). C'est un indicateur du niveau de régulation physiologique des éléments. Na, K et Cl ont de faibles coefficients de distribution ( $<0,05$ ) alors que le Sr présente un coefficient de distribution d'environ 0,14. Pour un grand nombre d'éléments, le coefficient est inférieur à 0,25 ou proche de 1. Des études réalisées sur l'affinité du Sr, Zn, Pb, Mn, Ba et Fe pour les otolithes suggèrent que leur abondance relative dans l'environnement pourrait être reflétée dans l'otolithe (Campana & Thorrold 2001). Ainsi, de par leur capacité à ne pas se résorber et malgré les filtres physiologiques, les otolithes ont été qualifiés d'enregistreurs permanents de l'exposition des poissons à l'environnement (Campana et al. 1997) tels une « boîte noire » (Lecomte-Finiger 1999).

### I.3.2.2 Otolithométrie

Pour estimer l'âge des individus, les otolithes de chaque individu ont été extraits des capsules otiques à l'aide de pinces fines préalablement nettoyées à l'eau milliQ. Ils ont été nettoyés à l'eau distillée puis séchés. Chaque paire d'otolithe a été placée dans un tube labélisé et fermé puis placé à l'obscurité (Vigliola 1997) (Figure 17).



**Figure 17 : Photographies de l'extraction de la paire de sagittae d'un *Acanthurus triostegus*. A : séparation du corps et de la tête. B : Dissection de la tête pour accéder aux otolithes. C : localisation des otolithes dans leur capsule otique. D : Otolithes extraits dans un bain d'eau distillée pour nettoyage. E : Otolithe extraits, nettoyés et séchés. F : Stockage de la paire d'otolithe.**

L'otolithe a ensuite été transformé afin d'obtenir une section mince dans son axe transversal (Figure 15). Pour cela, chaque otolithe a été enrobé sur lame dans du Crystal Bond®, une résine thermolabile, permettant ainsi une manipulation de l'otolithe. Poncé d'abord sur sa face antérieure jusqu'aux abords de la zone centrale, il est ensuite positionné pour poncer sa face postérieure. Ces ponçages se font de façon manuelle sur des disques abrasifs Escil® de granulométrie de plus en plus fine (de 400 à 1200 grains par cm<sup>2</sup>) puis avec une finition sur des disques de 5, 2, 1 et 0,2 µm de granulométrie. Un contrôle visuel est réalisé fréquemment sous loupe binoculaire et microscope pour approcher au plus près la section contenant le primordium. Chaque section transversale d'otolithe est ensuite photographiée sous microscope à travers le logiciel TNPC®. Les marques de croissances journalières de

chaque individu pioché au hasard sont ensuite comptabilisées à l'aide du logiciel ImageJ et inscrites sur l'image afin de pouvoir revenir sur les données comptabilisées.

### I.3.2.3 Analyse de la composition chimique

#### *Différentes techniques d'analyse*

Il existe différentes techniques d'analyses de la composition chimique des otolithes qui visent différents éléments chimiques avec plus ou moins de sensibilité. Elles permettent ainsi de répondre à des questions différentes (D'après De Pontual 2001 Panfili *et al.* 2002b) : la validation des estimations d'âge, l'identification des stocks (stocks adultes ou identification de nurserie), les couloirs de migrations (par la température ou la salinité) et les événements ontogéniques et métaboliques (reproduction, métamorphose, activité métabolique). Notre question principale concerne la discrimination des stocks de poissons récifaux via des traceurs environnementaux, elle nous pousse donc à faire appel aux techniques associées à l'identification des stocks à partir des éléments mineurs et traces contenus dans l'otolithe. Cette approche nous laisse ainsi la liberté d'explorer la signature multi-élémentaire chez des espèces dont la composition des otolithes n'a pas encore été mesurée tout en se concentrant sur les éléments les plus connus à ce jour. Ainsi nous excluons les analyses des rapports isotopiques mono-élémentaires comme celle du  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . Enfin, afin de mieux cerner le début de la vie des poissons (origine du recrutement), le site de capture de l'individu (discrimination des populations) ainsi que tous les événements pouvant survenir entre la naissance et la mort de l'individu, nous conserverons la dimension temporelle de nos analyses avec une haute sensibilité. Pour cela, trois techniques peuvent être utilisées : la méthode PIXE (Particle Induced X-ray Emission), la méthode SIMS (Spectrométrie de Masse d'Ions Secondaires) et la méthode LA-ICP-MS (Laser Ablation - Inductive Coupled Plasma Mass Spectrometer).

- La méthode PIXE permet d'analyser la composition de la surface d'un échantillon sans le détruire. Elle mesure le rayonnement X transmis par l'excitation des couches électroniques des éléments chimiques (Bellot-Gurlet 1998; Huszank *et al.* 2009). Cette méthode est très coûteuse de par le matériel nécessaire à sa mise en place (accélérateur de particules, détecteur/doseur de rayon X, chaîne électronique reconstituant les spectres de rayons X).
- La méthode SIMS a pour principe général de mesurer la concentration des isotopes à partir de la surface d'un échantillon mis sous tension. Les éléments sont décrochés de l'échantillon par un bombardement ionique primaire, puis analysés dans un spectromètre de masse. Cette

technique permet de mesurer les concentrations en élément sur un gradient vertical dans l'échantillon pour un coût raisonnable (Seyama 2003).

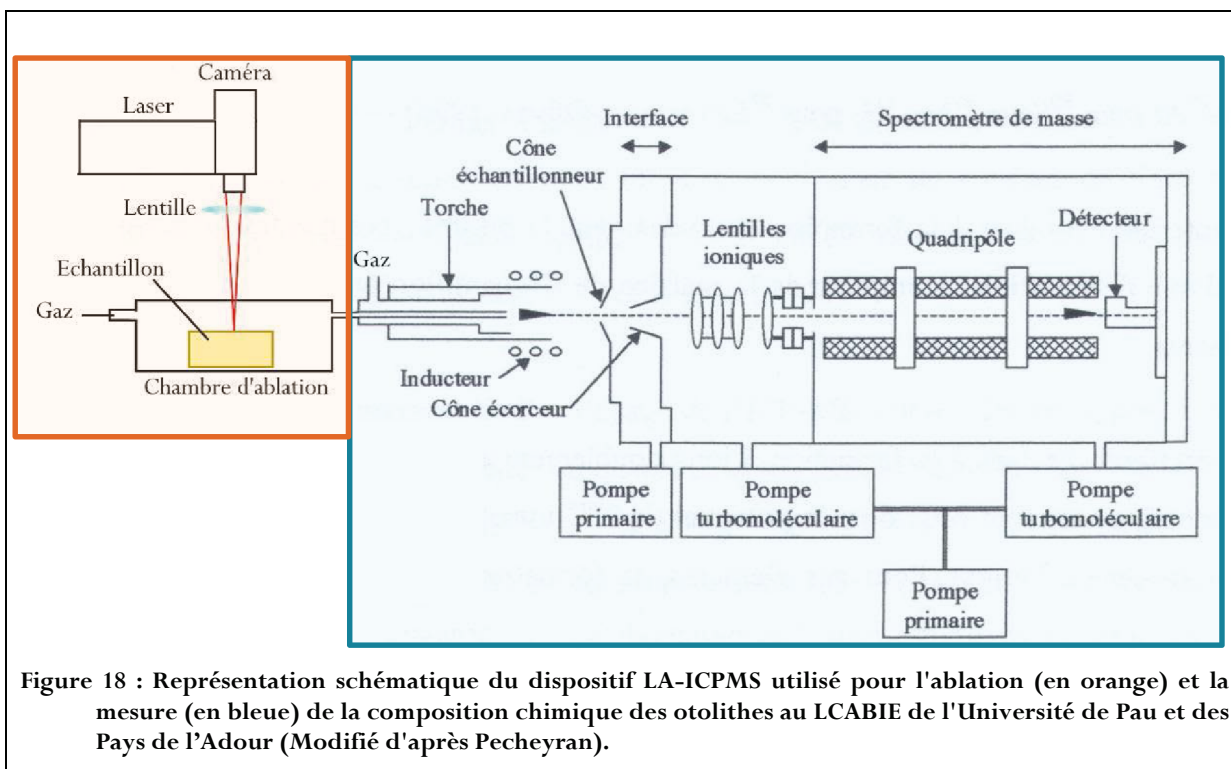
- La méthode LA-ICP-MS a pour principe de mesurer la concentration des isotopes de la surface d'un objet en prélevant une fine portion par la puissance d'un rayon laser. La matière ablatée est acheminée au sein d'un spectromètre de masse où elle est analysée en temps réel lors de son passage dans une torche de plasma. De plus, l'échantillon peut être mis en mouvement permettant de parcourir la surface de l'échantillon lors de l'analyse selon la trajectoire souhaitée (Pickhardt et al. 2005; Pecheyran 2009).

Pour notre étude, nous cherchons à connaître les variations temporelles de la composition chimique de l'otolithe avec précision, l'état de dégradation de nos échantillons après analyse n'est donc pas un critère déterminant. Parmi les différentes techniques analytiques existantes, la méthode LA-ICP-MS et sa capacité à analyser en temps réel la surface d'un échantillon en déplacement devrait permettre de répondre à nos besoins.

L'analyse de la composition chimique d'un solide par ablation laser est une technique en constante évolution qui suit des différents appareils utilisés : une chambre d'ablation laser et un spectromètre de masse (Figure 18).

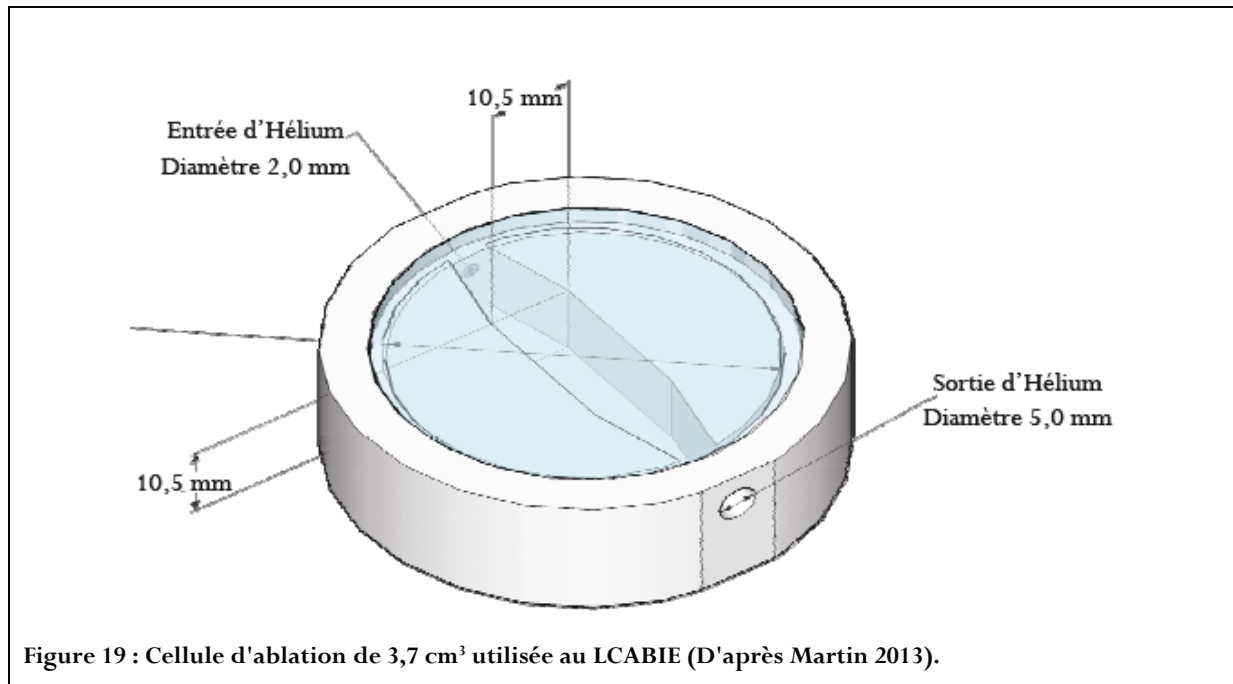
L'analyse se déroule en 4 étapes :

- un ou plusieurs échantillons sont placés dans la chambre hermétique d'ablation,
- le laser est focalisé sur la surface de l'échantillon manuellement,
- le tir de laser met en suspension une partie de l'échantillon qui est aussitôt véhiculé par le souffle de gaz qui traverse la chambre d'ablation,
- les particules sont transportées dans un plasma pour être atomisées et analysées dans le spectromètre de masse.



Cette technique permet l'analyse directe de microéchantillons solides sans mise en solution préalable, ce qui limite les possibilités de contaminations. A chaque étape, plusieurs points ont fait l'objet de choix méthodologiques.

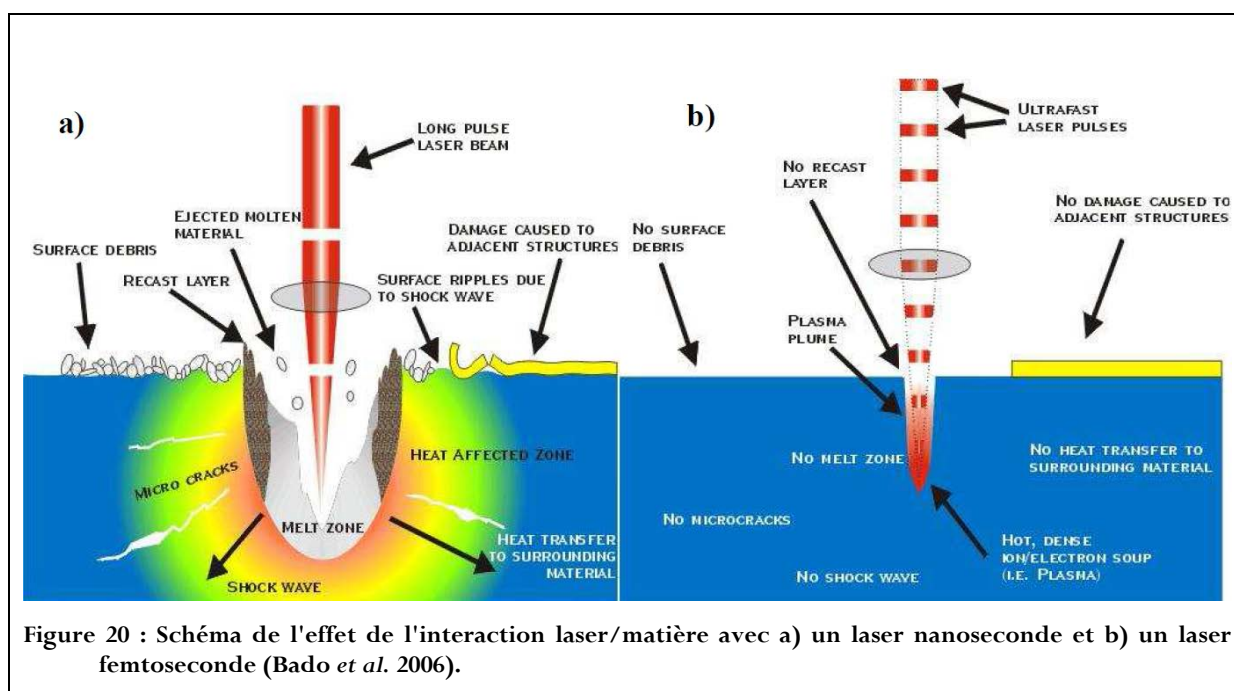
L'échantillon est placé dans une chambre hermétique d'ablation à travers laquelle circule un gaz, l'Hélium, qui sera le vecteur des microparticules soulevées par l'ablation laser. La géométrie de cette chambre est un paramètre à prendre en compte pour optimiser le transport de la matière et la sensibilité des analyses. Les cellules de petites tailles ( $<10\text{cm}^3$ ) présentent un meilleur rapport de la mesure par rapport au bruit de fond et une meilleure sensibilité (Garcia *et al.* 2007). La cellule utilisée au laboratoire LCABIE fait  $3,7\text{cm}^3$  (Figure 19).



Cette cellule de petite taille permet une purge rapide du volume (de 1 à 2s pour 99,9% de rinçage) mais la taille des échantillons doit être adaptée en fonction des besoins (moins de 10,5 mm pour notre étude) (Martin 2013).

Le laser à impulsion brève (laser femtoseconde) délivre son énergie en  $10^{-15}$  s, 1 million de fois plus rapidement que celle des lasers nanosecondes. Cette technologie a un impact direct sur la qualité de l'ablation de la matière. Avec un tir laser de l'ordre de la nanoseconde, l'énergie des photons peut se dissiper sous forme de chaleur à travers l'échantillon. Le matériau se fissure et subit localement des phénomènes de fusion, voire d'ionisation, qui peuvent se propager au-delà de la zone ciblée. Ces changements d'état dégradent la qualité de l'impulsion et son effet sur la matière. Ces phénomènes sont absents des conséquences d'un tir laser femtoseconde. La courte durée d'impulsion est suffisante pour créer un aérosol mais trop faible pour engendrer un réchauffement. L'ablation, dite froide, conserve alors toute son efficacité (Le Harzic *et al.* 2002) (Figure 20).





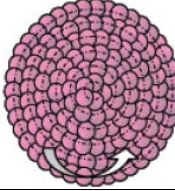
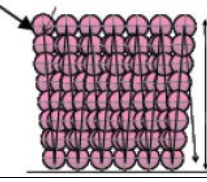




Le laser femtoseconde (Aflamet, Novalase, France) utilisé dans notre étude présente une source lumineuse dans les infra-rouge proches (1030 nm) et peut fonctionner à haute cadence de tir ( $<10\,000\text{Hz}$ ). Cependant, le faisceau laser n'excède pas les  $15\mu\text{m}$  de diamètre ce qui ne permet pas d'ablater une quantité suffisante de matériau pour atteindre la sensibilité requise à la mesure d'éléments traces. Pour pallier à ce défaut, un scanner galvanométrique permet de déplacer le faisceau laser extrêmement rapidement ( $<280\text{ mm/s}$ ) dans le plan horizontal de l'échantillon avec une très grande précision de repositionnement ( $22\mu\text{rad}$ ). Ainsi, en combinant la grande vitesse de déplacement du faisceau et la haute cadence de tir, ce module permet d'ablater quasi instantanément à l'échelle de temps de la mesure ICP-MS des surfaces beaucoup plus grandes, de quelques  $\mu\text{m}^2$  à quelques  $\text{mm}^2$ . De plus, la puissance et la taille du faisceau sont paramétrables.

Le grand atout de la station Aflamet du LCABIE réside dans la cellule d'ablation montée sur une platine mobile selon deux axes (X et Y). Le déplacement du faisceau laser peut être ainsi combiné à celui de l'échantillon permettant d'accéder à une multitude de stratégie d'ablation en fonction de la problématique posée (Tableau 1).



**Tableau 1 : Exemples de stratégies d'ablations laser réalisables avec le système Alfamet (Claverie *et al.* 2009). Les flèches indiquent le mouvement du faisceau laser et/ou de l'échantillon.**

Stratégie	Type d'ablation	Schéma représentatif	Description
Micro-Analyse	Single pulse		Ablation en un point fixe par cratère.
	Scan 1D		Ablation sur une ligne par déplacement de l'échantillon ou du faisceau laser.
Macro-analyse	Ablation circulaire		Ablation flash de cratère de large diamètre par réalisation de trajectoires circulaires avec chevauchement des impulsions laser. L'apport de matière peut-être quasi-simultané.
	Scan 2D		Ablation nécessitant la coordination du mouvement du faisceau laser et du déplacement de l'échantillon. Elle permet d'augmenter la sensibilité de l'analyse élémentaire.
Trajectoires complexes	Ablation simultanée de deux échantillons		Par la maîtrise de la mise en marche du faisceau laser au cours d'une trajectoire complexe, il est possible de créer un mélange d'aérosol homogène de deux échantillons.
	Marquage		Marquage et analyse simultanés.

Une fois ablatée, l'aérosol de matière est véhiculé jusqu'à l'ICP par un gaz vecteur qui circule dans la chambre d'ablation. Il s'agit d'Hélium (He) qui a remplacé l'Argon (Ar) grâce à sa capacité à mieux transporter les particules (1,5 fois plus ionisant, 10 fois moins dense et une conductivité thermique 10 fois plus grande), et donc à améliorer le signal mesuré par l'ICP-MS d'un facteur 2 à 4 (Eggins *et al.* 1998; Koch *et al.* 2008).

L'ICP-MS permet de déterminer la composition en éléments traces d'échantillons solides ou liquides. Pour cela, l'aérosol d'échantillon véhiculé depuis la chambre d'ablation pénètre dans une torche à plasma d'hélium où il est atomisé sous l'effet de la très haute température (5 000 à 10 000°K). Les ions sont transférés vers le spectromètre de masse. Le principe de mesure du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leur charge et de leur masse atomique. Les ions ayant le rapport charge/masse sélectionné pour analyse sont transmis au détecteur où le nombre d'impulsions par seconde se traduit en concentration par l'interface informatique.

La précision de la mesure dépend en grande partie du phénomène de « fractionnement élémentaire ». Il désigne la modification des rapports élémentaires durant l'ablation laser qui peut survenir de deux façons :

- Par évaporation préférentielle des éléments volatils dans le gaz vecteur : certains éléments sont plus volatils que d'autres. Ainsi, au cours de l'ablation, leur propulsion dans l'aérosol peut être favorisée au détriment d'autres éléments plus lourds. Ceci se traduit par un enrichissement progressif de l'élément volatil par rapport à l'élément réfractaire au cours de l'ablation.
- Par la taille des particules formées au cours de l'ablation varie au cours de l'ablation : les plus grosses, jusqu'à 2  $\mu\text{m}$  de diamètre sont éjectées en début d'ablation puis s'affinent sur la fin de l'ablation. Ces grosses particules sont plus difficilement atomisées dans le plasma et leur détection ne peut se faire correctement.

Pour diminuer ces deux effets, nous avons vu que l'utilisation d'un laser femtoseconde améliore la qualité de la matière vaporisée. Une autre solution consiste à calibrer les mesures à l'aide d'un standard introduit tout au long de l'analyse, ainsi que d'utiliser des matériaux de référence dont la composition, parfaitement connue, est similaire à l'échantillon étudié. Bien que ces étalons ne suppriment pas l'effet de fractionnement, ce dernier se produira de la même façon sur le matériau de référence comme sur l'échantillon permettant alors de le compenser dans les mesures. Dans le domaine des biominéraux, quelques matériaux de référence sont accessibles sur le marché. Ils sont créés de toute pièce en incorporant une concentration connue d'élément d'intérêt au sein d'une matrice similaire à celle des échantillons analysés. L'ablation de plusieurs étalons de différentes concentrations permettent de réaliser une courbe d'étalonnage externe applicable à l'échantillon inconnu (Barats *et al.* 2007; Tabouret *et al.* 2010).

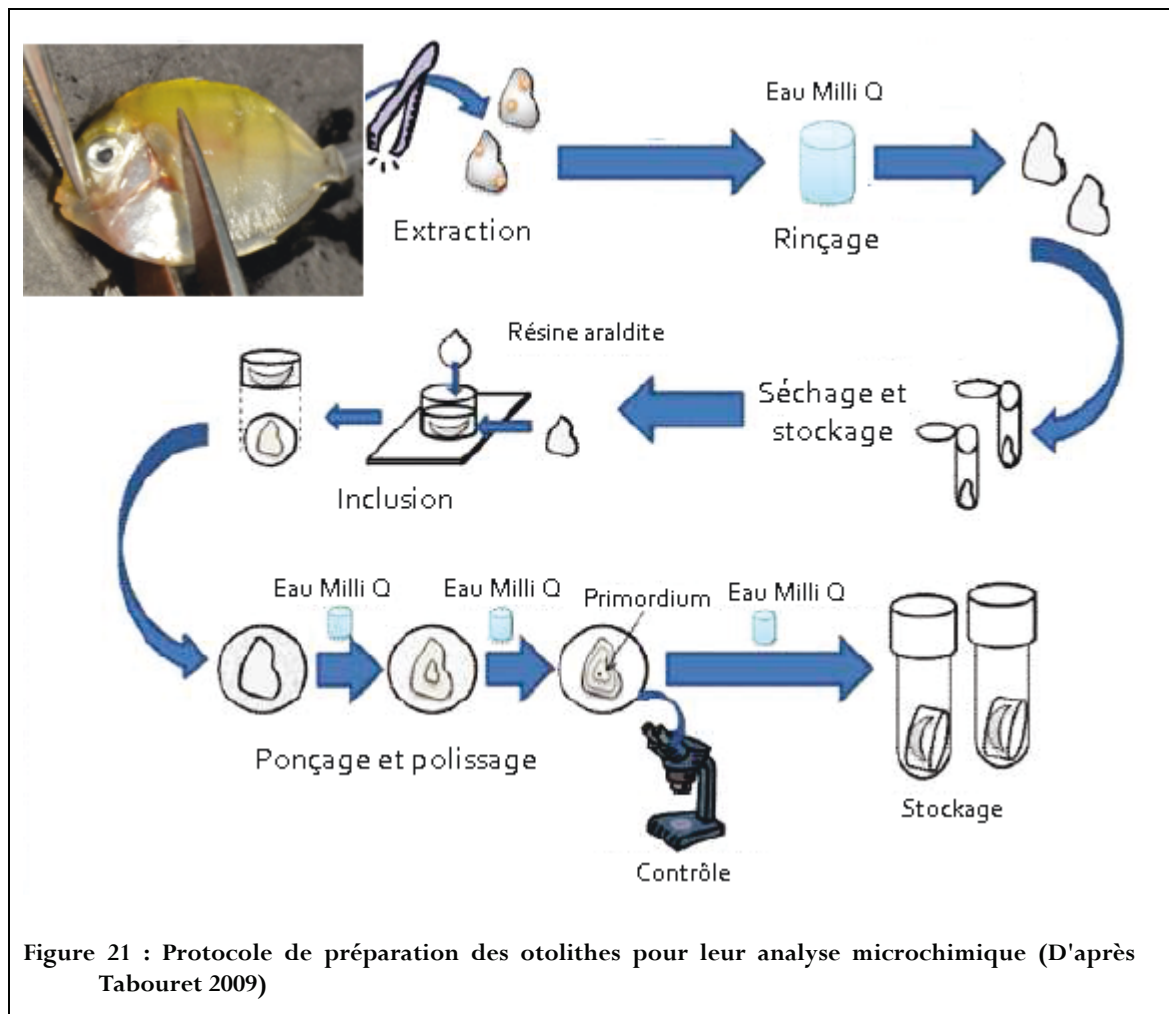
### Le LA-ICP-MS

Avec un coût raisonnable et une adéquation aux objectifs de l'étude, nous avons opté pour la méthode LA-ICP-MS qui sera effectuée au LCABIE de l'Université de Pau et du Pays de l'Adour. Les contraintes techniques de l'analyse microchimique nécessitent une préparation adaptée des échantillons.

Pour chaque individu, la *sagitta* de gauche a été utilisée pour le dénombrement des marques de croissances et celle de droite pour les analyses chimiques. Bien que les travaux de Loher et al (2008) n'ont montré qu'il n'existait pas de différences significatives dans la composition chimique des *sagittae* droite et gauche malgré une différence de symétrie et de taille entre les deux otolithes, nous avons préféré utiliser toujours le même côté pour chacune des analyses.

Après extraction, rinçage et séchage, les otolithes droits ont été inclus individuellement dans une résine de type Araldite qui n'interfère pas avec l'analyse des éléments de l'otolithe. L'inclusion de

l'otolithe s'est faite en plaçant la face distale vers le fond du moule afin de présenter l'otolithe sur un plan sagittal, le plus long, qui permet d'avoir la meilleure résolution temporelle. Sec en 24h, le socle a été réduit de hauteur par une scie de précision Alfamet©. La section sagittale de l'otolithe est ensuite obtenue par ponçage manuel sur des disques abrasif Escil© de granulométrie de plus en plus fine (de 400 à 1200 grains par cm<sup>2</sup>), puis avec un polissage sur des disques de 5, 2, 1 et 0,2 µm de granulométrie (Figure 21). Les échantillons sont stockés au sec avant analyse.



La stratégie analytique à définir de l'ablation laser doit prendre en compte 3 paramètres intrinsèques à notre problématique : 1) la concentration d'un ensemble d'éléments présents à l'état de traces doit être mesuré, 2) la dimension temporelle de l'otolithe doit être conservée et 3) la définition temporelle de la mesure doit être de plusieurs jours tout au plus. Pour ces raisons, nous avons choisi d'effectuer des analyses de type Scan 2D qui nous permet de réaliser une ablation continue le long de l'axe de l'otolithe (conservation de la dimension temporelle de l'otolithe). La largeur du scan est définie pour obtenir un compromis entre la force du signal des éléments traces (quantité de matière

importante) et la résolution temporelle de l'otolithe (largeur du scan faible). Ainsi, nous avons défini les paramètres d'analyse (Tableau 2).

**Tableau 2 : Paramètres du couplage Laser et Plasma à Induction couplé à un Spectromètre de Masse (LA-ICP-MS).**

<b>Laser</b>	
Instrumentation	Femtolaser (Alfamet – Novalase, France)
Longueur d'onde	1030 nm
Fréquence de tir	1000 Hz
Durée de l'impulsion	360 fs
Energie	26 mW
Stratégie d'analyse	Linear raster scan
Vitesse de la platine	5 $\mu\text{m.s}^{-1}$
Vitesse du scan	1000 $\mu\text{m.s}^{-1}$
Largeur du scan	80 $\mu\text{m}$
<b>ICP-MS</b>	
Instrumentation	Perkin Elmer DRCII
Torch	2 inlets – Internal injector diameter 1.5 mm
Plasma	Humide avec solution de Thallium (10tpm)
Nebuliseur	Pneumatic concentric nebulizer 1mL.min <sup>-1</sup>
Spray chamber	Cooled impact bead (2°C)
Coolant gas flow (Ar)	15 L/min
Auxiliary gas flow (Ar)	1,2 L/min
Nebulizer gas flow (Ar)	0.74 L/min
Carrier gas flow (He)	0,58 L/min
Dwell time (ms)	20 ms per mass
Internal standard (m/z)	<sup>43</sup> Ca
Isotopes monitored	Mn <sup>55</sup> , Sr <sup>86</sup> , Ba <sup>138</sup> , Mg <sup>24</sup> , Mg <sup>25</sup> , Rb <sup>85</sup> , Li <sup>7</sup> , Cu <sup>63</sup> , Cu <sup>65</sup> , Zn <sup>66</sup> , Zn <sup>68</sup> , Na <sup>23</sup> , Pb <sup>208</sup>

La méthode scan 2D nécessite de paramétrer manuellement les coordonnées du début du transect et celle de la fin. Pour cela, le point de départ et le point d'arrivée sont définis sur la surface de l'otolithe par leur longitude, latitude et altitude. Afin de nettoyer une dernière fois la surface de l'échantillon avant l'ablation, une pré-ablation est réalisée le long du transect qui consiste en une faible et rapide ablation de la surface du scan défini. Avant le tir laser, le bruit de fond est enregistré pendant 10 à 20 secondes par l'ICPMS afin de corriger les mesures de chaque individu. Enfin, l'ablation contient systématiquement l'analyse d'une partie de la résine afin de s'assurer qu'elle n'interfère pas avec les éléments mesurés.

Quatre standards certifiés sont analysés pour calculer les concentrations élémentaires absolues. Il s'agit du CRM d'otolithe (Certified Reference material NIES n°22, National Institute for Environmental Studies, Japon) dont les teneurs en Ba, Ca, Mg et Sr sont certifiées au sein d'une matrice de carbonate de calcium et 3 verres provenant du National Institute of Standards and Technologies (USA) : le NIST 610, le NIST 612 et le NIST 614 pour lesquels les concentrations en Mn, Sr, Ba, Mg et Rb sont certifiées. Néanmoins, ces verres ne sont pas faits d'une matrice de carbonate de calcium. Ces mesures sont réalisées toutes les 3 heures pour corriger d'éventuelles variations dues à l'utilisation routinière de l'appareillage, tout comme l'analyse constante d'une solution de Thallium, constamment nébulisée dans le flot de particules. Pour tous les autres éléments mesurés dans les otolithes pour lesquels il n'existe pas de référence certifiée, leur concentration ne peut être exprimée qu'en ratio par rapport à l'élément de référence dans l'otolithe, le Calcium.

### I.3.3 Analyse de l'environnement

Des échantillons d'eau de mer ont été collectés avec du matériel préalablement nettoyé dans un bain d'acide nitrique à 10% pendant 60 minutes aux ultrasons, puis abondamment rincés avec de l'eau milliQ. L'eau échantillonnée est prélevée dans un récipient rincé abondamment 3 fois avec de l'eau de mer. A l'aide d'une seringue en polypropylène préalablement rincée 3 fois avec l'eau de mer, 20 mL d'échantillon sont filtrés à travers un support de filtration jetable équipé de filtre PVDF Whatman de porosité 0,45µm et préalablement nettoyés dans un bain d'acide nitrique à 2% pendant 5 minutes aux ultrasons, puis abondamment rincé avec de l'eau milliQ. Le tube de stockage est rincé avec ce premier filtrat. L'échantillon est ensuite acidifié avec 100 µl d'acide nitrique ultrex pur pour 50 mL d'échantillon d'eau de mer filtrée, puis stockés entre 1 et 7°C à l'abri de la lumière.

Les échantillons d'eau de mer ont été analysés par spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS) pour les éléments Mn, Sr, Ba, Li, Rb, Zn et Cu, et par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES) pour Ca et Mg. Les échantillons ont subi une photolyse UV à 254 nm pendant 12 h avant de passer en extraction sur colonne SPE de type Chelex. Pour chaque échantillon, la colonne est nettoyée avec 5mL d'HNO<sub>3</sub> 2M, puis rincée avec 5mL d'eau milliQ. Ces étapes sont répétées deux fois. La colonne SPE, conditionnée avec un tampon d'acétate d'ammonium 2M à pH = 5,4, subit le passage de 25mL de l'échantillon tamponné à un pH=5,4. Les sels sont ensuite élués avec 5mL d'eau MilliQ, puis avec 5mL de tampon 2M avant d'éluer les métaux avec 2,5 à 5mL d'HNO<sub>3</sub> 2M. La même colonne est ainsi utilisée pour plusieurs échantillons d'eau de mer. La quantification se fait par analyse

ICPMS-DRC par étalonnage externe avec le Rhodium (Rh) comme étalon interne (0,1 à 10 ppb dans une solution de HNO<sub>3</sub> 2M).

### I.3.4 Analyse des données

Pour analyser les profils élémentaires des otolithes, des analyses de fonctions discriminantes (DFA) avec validations croisées ont été utilisées sur les concentrations chimiques mesurées dans les otolithes afin de grouper les individus indépendamment de leur site d'origine. Pour cela, les 5 principaux composants d'une analyse en composante principale (ACP) ont été utilisés dans une analyse hiérarchique (HCA). La position des individus à l'issue de ces tests a permis de les grouper en cluster en fonction de leur distance les uns par rapport aux autres. Le nombre optimal de cluster est alors automatiquement indiqué par le test. Les variables qui décrivent le mieux les groupes formés sont alors indiqués par test statistique (chi carré) (Meunier *et al.* 2006).

Les différences de moyennes des concentrations élémentaires entre les groupes d'individus ont été mesurées par les tests paramétriques (ANOVA) et non-paramétriques (Kruskal-Wallis, Wilcoxon) après que l'homogénéité des variances et la normalité des données aient été testées respectivement par le test de Bartlett (Bartlett 1937) et le Test de Shapiro, (Royston 1982b, a, 1995). Les analyses statistiques ont été réalisées sous le logiciel R (R Development Core Team 2009).



## CHAPITRE II VARIATIONS DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES OTOLITHES A LA REUNION

---

### II.1 Utilité de la chimie des otolithes pour déterminer les histoires de vie d'*Epinephelus merra* à La Réunion

Les travaux de K. Pothin (2005) mettent en évidence le potentiel des otolithes à identifier des signatures chimiques sur les *Epinephelus merra*. La comparaison de la composition chimique in toto du nucléus et du bord de l'otolithe ont montrés des résultats homogènes. Ce travail concluait alors à un autorecrutement majoritaire.

Depuis, l'analyse microchimique par ablation laser s'est développée (Campana 2005a). A l'aide de cette technique permettant d'analyser la dimension spatiale d'un échantillon, la comparaison de la composition chimique des otolithes d'*Epinephelus merra* permet de mettre en relief des différences de concentrations entre des individus issus des récifs coralliens de La Réunion au fur et à mesure de leur vie (Riou 2009, 2010) là où des mesures *in toto* les rassemblaient tous sous une même signature chimique. Chaque phase de vie d'un individu porte alors une signature propre mais variable d'un groupe d'individu à un autre. Que peut alors apporter l'analyse fine des échantillons par LA-ICP-MS en fonction de ces phases de vie ? Comment cette approche individuelle de la vie de l'individu permet-elle de caractériser les échantillons ? Nous choisissons alors d'adopter une approche individuelle spatiale pour caractériser le profil élémentaire de chaque individu en fonction des phases de vie à l'aide des éléments traces majeurs piégés dans les otolithes.



*The usefulness of otolith chemistry to determine the life history of the  
honeycomb grouper around Reunion Island (SW Indian Ocean)*

**Fisheries Research, 179 (2016) 104-114**

**A. Riou<sup>1,2</sup>, G. Bareille<sup>3</sup>, F. Morat<sup>4</sup>, K. Pothin<sup>2</sup>, N. Bru<sup>5</sup> & P. Chabanet<sup>1</sup>**

1 UMR IRD-UR-CNRS ENTROPIE, Laboratoire d'Excellence Labex CORAIL, Institut de Recherche pour le Développement, CS 41095, 97495 Ste-Clotilde, Réunion Island (antoine.riou@ird.fr, pascal.chabanet@ird.fr)

2 Reserve Naturelle Marine de la Réunion, 39 rue du Lagon, Lot Dayot1, 97434 La Saline Les Bains, Reunion (karine.pothin@reservemarinereunion.fr)

3 LCABIE, UMR 5254 IPREM UPPA/CNRS, Hélioparc Pau Pyrénées, 2 avenue du Président Angot, F-64053 PAU Cédex 9, France (gilles.bareille@univ-pau.fr)

4 Irstea-Centre d'Aix en Provence, 3275 Route de Cézanne, CS 40061, 13182 Aix en Provence Cedex 5 (fabien.morat@irstea.fr)

5 Laboratoire de Mathématiques et de leurs Applications de Pau (LMAP) UMR CNRS 5142, F-64600 Anglet (noelle.bru@univ-pau.fr)

**Abstract**

Due to the relative geographical isolation of Reunion Island the grouper *Epinephelus merra* is assumed to be self-recruited but almost nothing is known about its larval history. We used elemental composition of the otoliths (Ba, Sr, Mn, Mg, Na) of fifty-eight one year-old groupers collected from four main coral reefs on the west coast of Reunion Island, to determine environmental variations during their early life history. Core radius, pelagic larval duration, (PLD) and mean otolith growth rate during the pelagic larval phase (PLP) were also determined to assess larval condition. Hierarchical clustering analysis of the chemical composition of core and early larval phase otoliths, allowed the identification of three groups of larvae, two of them (clusters 1 and 3) having opposite dispersal kernels while the third (cluster 2) showed scattered distribution. Larvae from the first group were born and dispersed in Ba-enriched water bodies primarily from the southern sector (74 %). They had slightly lower fitness compared to the two other groups. The second and third groups included larvae with slightly higher fitness levels that had crossed Ba-poor water masses. Larvae of group 3 were more abundant in the northern sector (56 %) suggesting a spawning ground in the vicinity. They have and a shorter dispersal time (lower PLD) compared to the other groups. Patterns of larval dispersion and connectivity around Reunion may be largely dependent on hydrographic features that cause or prevent larvae from becoming displaced far from their natal area.

Keywords: LA-ICP-MS - Barium - *Epinephelus merra* – Pelagic larval phase – reef.

## 1. Introduction

The pelagic phase of many reef fish, either as eggs or larvae, enables larvae to be dispersed over vast distances by ocean currents (Doherty et al. 1985; Shulman & Bermingham 1995), thus creating an open population with the arrival of recruits from local or non-local sources (Roughgarden et al. 1988; Caley et al. 1996). Understanding larval dispersal patterns and the recruitment variability is thus fundamental to further understanding the population dynamics and implementing effective management of marine harvested species (Cowen & Sponaugle 2009; Sale et al. 2010).

Identifying the dispersal history of settled reef fish is particularly challenging due to the difficulties in tracking them during their pelagic larval stage. Assigning geographical origin and migratory pathways to the larvae of a recruitment site requires that potential sources of interest are known (i.e., spawning aggregations). However, this is not always the case, especially in the marine environment as complete sampling is not realistic and spawning grounds are not well documented for all marine fish species (Campana et al. 2000).

During their dispersal stage, larvae can be expected to inhabit various heterogeneous environments for extended periods, whether due to food and/or physicochemical conditions (temperature, salinity, water chemistry composition). Variable conditions experienced by larvae in the pelagic environment may thus influence their phenotypic variability (size, morphology, pelagic larval duration, growth rate, etc.) as well as the content of chemical elements archived in the daily incremental growth of their otoliths. This aragonite structure from the inner ear of fish, grows throughout their life with daily increments and is metabolically inert (Campana & Neilson 1985). As the fish grows, chemical elements are incorporated into the otolith under the influence of the physicochemical conditions of the surrounding water (chemical composition, temperature, salinity), the composition of their diet as well as metabolic changes (Campana *et al.* 1999b). Otoliths have proven to be very useful in addressing ecological questions regarding fish life history, especially to determine population structure and stock (Patterson *et al.* 1999; Gillanders 2002b; Bergenius *et al.* 2005a; Pothin *et al.* 2006) and to quantify patterns of larval dispersal (Jones et al. 1999; Swearer et al. 1999; DiBacco & Levin 2000).

Differences in otolith chemistry of reef fish species have been found among individuals within a mixed population that were derived from different sources (Swearer et al. 1999; Patterson et al. 2004a). Larval dispersal pathways were resolved at small spatial scale as they move across habitats with different environmental conditions during their pelagic phase (Gillanders & Kingsford 1996; Chittaro et al. 2004). Using parentage analysis, recent studies have shown that many larvae settle within 30 km of

their dispersal kernel (Christie et al. 2010; Harrison et al. 2012; Almany et al. 2013) while a few individual can disperse over large distances.

On the Reunion reef flats, honeycomb groupers *Epinephelus merra*, Bloch, 1793, are not abundant ( $< 1$  individual per 100 m<sup>2</sup>), (Chabanet et al. 2002) and their recruits are mainly observed during exceptional events such as cyclones, although it is thought to be mainly self-recruited (Pothin 2005). *E. merra* is traditionally harvested and its population is particularly vulnerable, but detailed information on its cycle is not currently available, especially about its breeding areas as this species disappears from the fringing reefs to spawn (Soyano et al. 2003). The origin of the larvae that are recruited to the fringing reef and their migratory history are thus largely unknown. Additionally, recent simulation through hydrodynamic modelling suggested that there is also the possible arrival of recruits from non-local sources (Crochelet et al. 2013). In 2007, the proclamation of a marine park resulted in fishing restrictions, but there is a great need to gain knowledge about the life cycle of this grouper known to be sedentary during its benthic phase.

Here, we explore the usefulness of otolith microchemistry to infer information on the life history of the honeycomb grouper that replenish the four fringing reefs of the west coast of Reunion Island. We estimated the most likely number of sources and dispersal histories using otolith geochemistry and hierarchical clustering analysis. Biometric parameters (pelagic larval duration, mean otolith growth rate during the larval stage, otolith core radius), have been taken as proxy of larval pelagic environmental conditions and were compared between each defined group of larvae and their potential to determine origins and pathways is discussed.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Description of sites and studied species**

Reunion Island (21° 07' S, 55° 32' E) is a volcanic subtropical island of the Mascarene archipelago (SW Indian Ocean) located 680 km east of Madagascar, 170 km southeast of Mauritius and 800 km southeast of Rodrigues (Fig. 1). The total shoreline of the island is approximately 215 km long, with 25 km of coral fringing reefs on the dry leeward coast. Reunion Island has a tropical climate marked by two seasons, a cool season (June to October) and hot season (November to May) during which tropical cyclones occur. The island has world record levels of rainfall for all time scales from 12 h to 15 days,

due to the heavy rainfall associated with tropical cyclones, their effects being strongly modulated locally by the topography (Barcelo et al. 1997; Mayes 2007). High groundwater discharge frequently flows along the shoreline (Cuet et al. 1988; Naim et al. 2000) and varies along the reefs depending on the thickness of the coastal sedimentary formations which lie over the highly permeable volcanic aquifer (Join et al. 1988). Furthermore, during the rainy season, two major erosional depressions (called “cirque de Mafate” and “cirque de Cilaos”) discharge highly concentrated sediment loads at the mouth of the Galet and Saint-Etienne Rivers on the west coast (Figure 22). It is thus likely that the coral reefs and their associated fauna are influenced by freshwater inputs via groundwater as well as runoff.



**Figure 22: Map of the sampling sites around Reunion Island, in the southwestern Indian Ocean.**

On the west coast of Reunion Island, surface water circulation is complex and poorly understood. Surface currents are driven primarily by the southeast trade winds and the island effect that would be

expected to generate anti-clockwise gyres with a general northward current along the coast (Dufour et al. 1995; Taquet 2004). Recent investigations based on drifter deployment have shown retention zones and heterogeneous current trajectories along the west coast, some buoys moving northward from Saint Leu to Saint Paul Bay in eight days and others southward from Saint Leu to the south of the Island in six days during the winter season (unpublished data, IFREMER).

The honeycomb grouper has a wide distribution in the Indo-Pacific region (Randall & Heemstra 1993). Groupers are usually found on structurally complex coral reefs or the rocky substrata of reef flats and outer reef slopes at depths of < 20 m, but they may occasionally be found up to depths of 50 m. The general biology and reproduction of *E. merra* is relatively well known (Harmelin-Vivien & Bouchon 1976; Smith & Heemstra 1986; Randall & Heemstra 1991; Taquet & Diringier 1992; Randall & Heemstra 1993). Spawning cycle of honeycomb grouper generally occurred between January and April and was related to lunar periodicity, 3 to 4 days of spawning at the time of full moon (Randall & Heemstra 1993). During the breeding period, mature males and females gather into aggregations a few days before the full moon into suitable environment outside their inhabited reef area (Soyano *et al.* 2003), but the locations of these aggregations are largely unknown around Reunion.

Fifty-eight one-year old individuals (mean standard length =  $10.5 \pm 1.9$  cm; mean body weight =  $34.5 \pm 18$  g) were randomly collected in January 2008 by the Reunion Marine Reserve Agency for scientific purpose on the reef flats of the four main reefs of Reunion Island: Saint-Gilles (SG, n = 15), Saint-Leu (SL, n = 15), Etang-Sale (ES, n = 13), and Saint-Pierre (SP, n = 15) (Fig. 1), respecting the law of the 6th January 1999

## 2.2. Otolith preparation and processing

From each individual collected, sagittal otolith pairs were extracted from the fish, cleaned with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ultrex), rinsed with 18.2 MΩ MQ water and dried. Left sagittae were embedded in araldite resin (Meliodent), ground on a sagittal plane to expose their primordium and polished with diamond papers of decreasing grain diameter (9.0, 3.0 and 0.1 μm) (Escil, Chassieu, France). Finally, the otoliths were double rinsed with 18.2 MΩ MQ water, dried prior to laser ablation-ICP-MS analysis and photographed. Right sagittae were embedded in Crystal Bond resin and polished in transversal thin sections to the primordium, then photographed with transmitted light at 400x magnification coupled to a video image system in order to determine the pelagic larval duration (PLD). The larval daily increments, validated by Pothin (2005) were counted from photographs captured by digital cameras

(Baumer) with the TNPC program (5.0) and linked to an optical microscope (Leica). On each otolith section (right and left) the hatch mark and the settlement mark that corresponds to a major shift in optical density and an abrupt change in increment widths (Wilson & McCormick 1999), were located to (1) delimit the core area and attribute each individual fish to an origin based on the chemical records and (2) to identify the pelagic larval phase to infer the larval dispersal patterns.

Left otolith samples were analysed with an IR 1 030 nm femtosecond laser (fs-LA, Alfamet-Novalase, France) coupled to an Elan DRC II (Perkin Elmer SCIEX Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer) following the protocol outlined by Tabouret et al. (2010). A continuous linear transect was taken across the otoliths passing through the core to the edge at a speed of 5  $\mu\text{m s}^{-1}$ . The laser beam was operated with a fluence of 20 J  $\text{cm}^{-2}$  and a repetition rate of 500 Hz leading to an ablation depth of 15  $\mu\text{m}$  (Martin 2013). As the core radius is on average 50  $\mu\text{m}$ , a 80  $\mu\text{m}$  width was chosen in order to firstly sample exclusively the core at least over an area of 40 x 80  $\mu\text{m}$  and secondly to ablate enough material for accurate multi-elemental analysis. Analytical accuracy was achieved using fish otolith certified reference material n°22 (National Institute for Environmental Studies, Japan) (Yoshinaga et al. 2000) which was analyzed several times a day. Fifteen isotopes, representing ten elements, were initially monitored ( $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{86}\text{Sr}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{135}\text{Ba}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{68}\text{Zn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ , and  $^7\text{Li}$ ). Due to the otolith aragonite composition ( $\text{CaCO}_3$ ),  $^{43}\text{Ca}$  was used as an internal standard during each ablation to control for variation in ablation yield and aerosol transfer efficiency. Background intensities collected for 20 s prior to running the laser were subtracted from the otolith signal and used to evaluate the limits of detection (LOD, calculated as blank gas mean +3 standard deviations). Absolute concentrations were calculated with the use of a standard curve based on the analysis of calcite pellets (Barats et al. 2007) and NIST (National Institute of Standards and Technology) glass material (610, 612, 614) as described by Martin et al. (2013).

Among the ten elements investigated, only five in addition to Ca were systematically found above the LOD during the larval phase and kept in the chemical dataset (LOD in  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of Ca: 5.80 for Sr, 0.04 for Ba, 0.60 for Mn, 16 for Na and 8.3 for Mg). The elements Sr, Ba, Mg, and Na were also present above the LOD in 100 % of post-settlement samples, whereas Mn was frequently below the LOD during the benthic life time. Elements were standardised to Ca (i.e., Sr:Ca, Ba:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, Mg:Ca) based on the stoichiometry of calcium carbonate (389 mg Ca g $^{-1}$  otolith or 9.71 mmol Ca g $^{-1}$  otolith, (Brown & Severin 2009)), as these elements can substitute for calcium in the otolith matrix (Campana 1999) and were converted to molar ratios (mmol mol $^{-1}$  Ca for Sr and Na,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  Ca for Ba, Mg and Mn).

### 2.3. Data analysis

Initially, for each element, otolith time series were qualitatively compared between individuals, taking into account known positions of hatch and settlement marks. Three portions of the otolith were defined for which mean Element:Ca ratios were calculated by integrating the corresponding portion of the transects. The first one corresponds to a 40  $\mu\text{m}$  portion that can only be attributed to the natal origin (core). The second portion corresponds to the pelagic larval phase (PLP), from the hatch mark to settlement mark). The last portion was defined as the post-settlement phase (PSP) from the settlement mark to the otolith edge. With regards to the pelagic larval phase, chemical signal begin to converge during the late PLP for all individuals, a wide diversity of chemical trends being found between individuals only during the early and middle PLP with an increase of some elements. . Clustering larvae on the basis of the entire pelagic phase or without the later part showed no significant difference in the classification of individuals. We thus decided to not taking into account the end of the PLP in the calculation of average values since this part corresponds to a transition zone to the generally low values encountered for all fish during the PSP.

To determine geographic differences in multivariate core signatures among reef locations, discriminant function analysis (DFA) with cross validation was used. Only 31 % of individuals were correctly classified suggesting poor site discrimination with regards to origin. In the absence of a source baseline, otolith chemical variables from the core and the PLP were used together in order to identify groups of fish with similar origin and pelagic history, independently from the site of capture. Data were first pre-processed by principal component analysis (PCA) to reduce the variability and produce uncorrelated components. Hierarchical cluster analysis (HCA) was then performed on the five first principal components of the PCA. Euclidean distances were used in the HCA to group individuals according to their similarity by calculating pair-wise distances between cases and aggregating the closest ones. Ward criterion was used for aggregation, it minimizes the within-inertia increases (Meunier et al. 2006). The optimal number of retained clusters is suggested automatically as the one with the higher relative loss of inertia. In order to determine which variables (chemical element and core or PLP portions) best describe the clusters statistical tests (chi square with factor and square correlation coefficient tests) were used. Calculations were performed with R software.

Differences in the mean of elemental ratios between the obtained clusters was investigated using parametric or non-parametric tests (Kruskal-Wallis, Wilcoxon, ANOVA) after which the data was tested for normality and homogeneity of variance for the core, the PLP and the pre-SP. To evaluate whether different sources and dispersal histories were associated with the differences in some larval

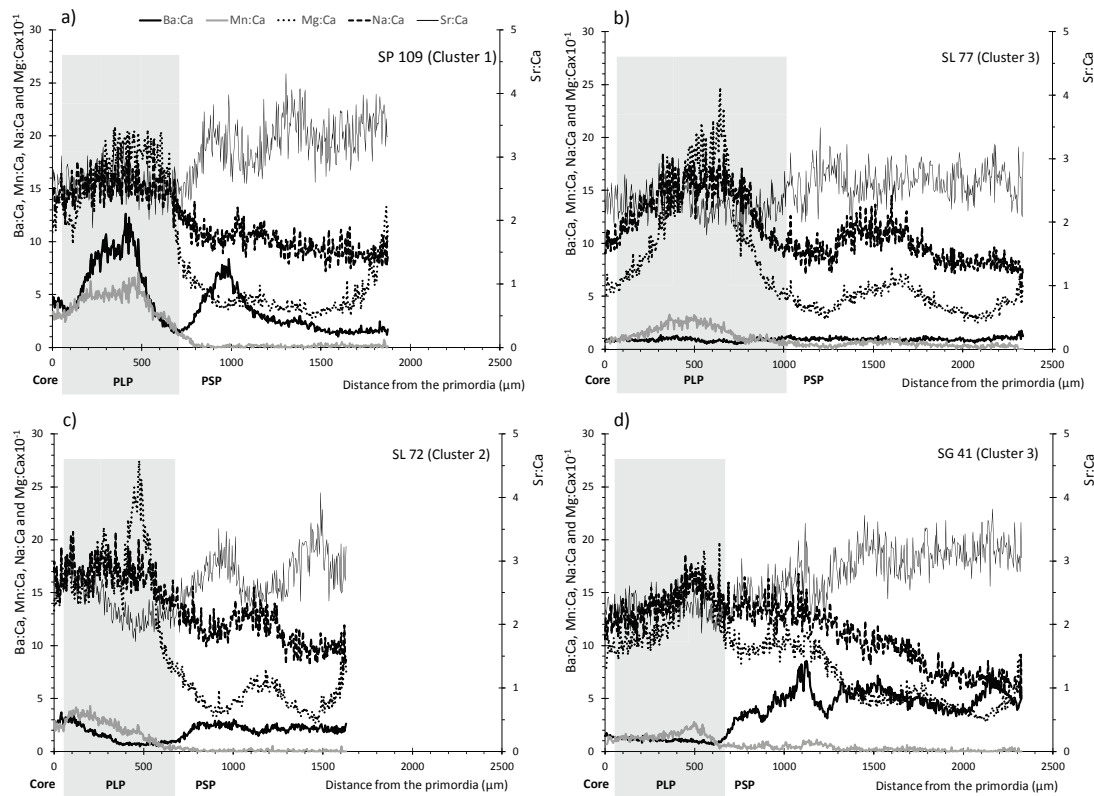


characteristics, we also considered differences between the clusters in the pelagic larval duration (PLD), otolith core radius and mean growth rate of the otolith during the whole pelagic phase.

### 3. Results

#### 3.1. Temporal variability in the elemental chemistry of *E. merra* otoliths

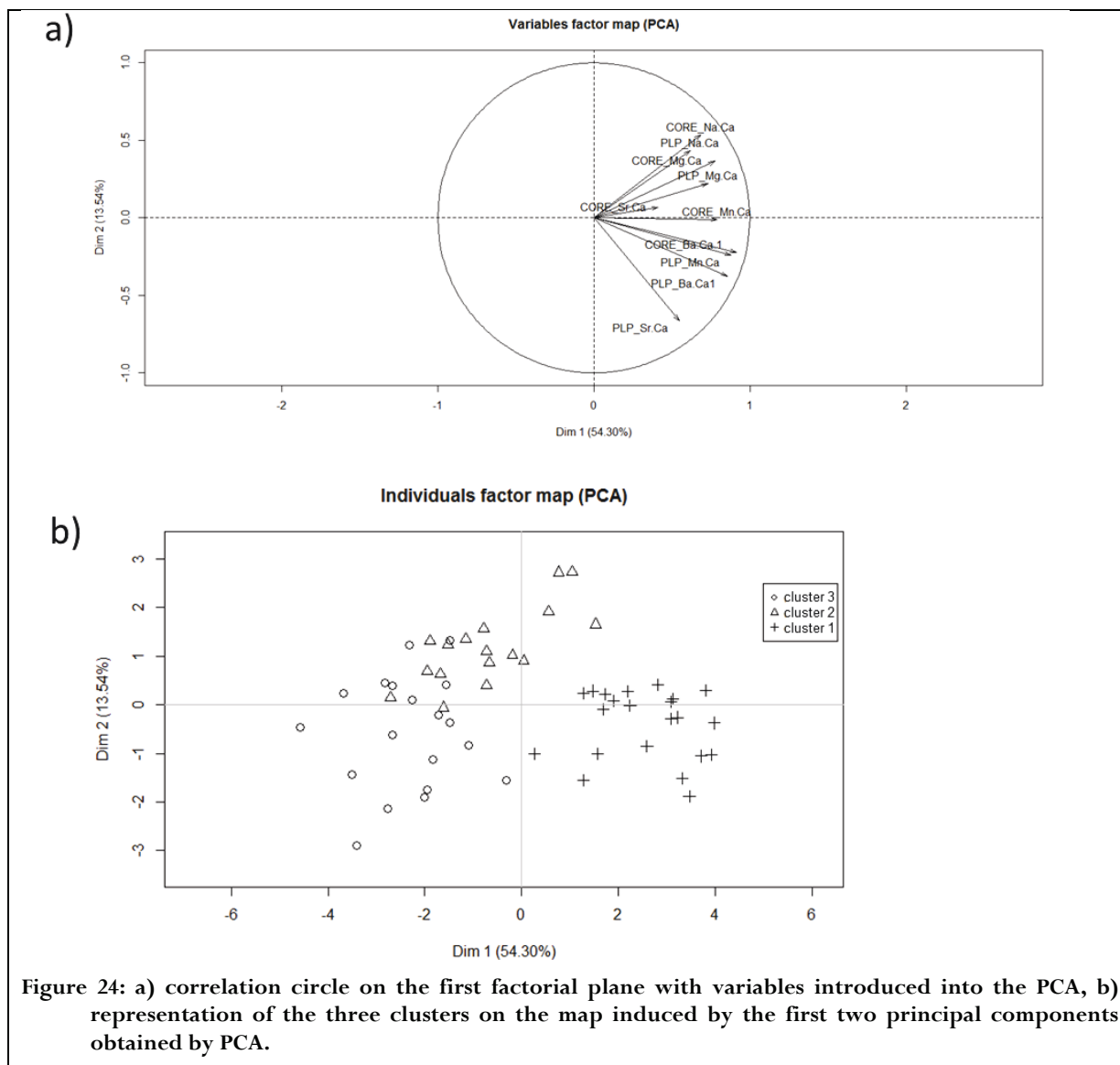
Trends in elemental profiles were similar for all *E. merra* (N = 58) for Sr:Ca, Mn:Ca, Mg:Ca and Na:Ca ratios, but not for Ba:Ca, regardless of the site. Overall, the Sr:Ca ratios exhibited slight increases during the PSP compared to the pelagic phase (**Figure 23a, b, c, d**). For most of the individuals, Mn:Ca, Mg:Ca and Na:Ca underwent a reverse pattern with an increase during the PLP, then decreasing in the later part of the pelagic phase (pre-SP) to reach the low and relatively constant values observed during the PSP (**Figure 23a, b, c, d**). Differences between individuals for these ratios were mainly related to the amplitude of core or PLP variations. In the case of the Ba:Ca ratio, an enrichment peak was observed for some individuals which were more frequently detected during the first half of the pelagic phase (**Figure 23a**), while others exhibited low and constant ratios across the whole pelagic life period. Individuals with high Ba:Ca ratio during the PLP were generally more enriched in Ba:Ca in their core than those depleted during the PLP. Interestingly, almost all the individuals, whether with or without abrupt changes in the Ba:Ca ratio, showed a minimum in the Ba:Ca profile late during the larval phase just before the onset of the PSP (Pre-SP). The Ba:Ca ratio then increased very slightly and remained constant during the PSP, although large fluctuations also occurred in a few individuals (**Figure 23a, d**).



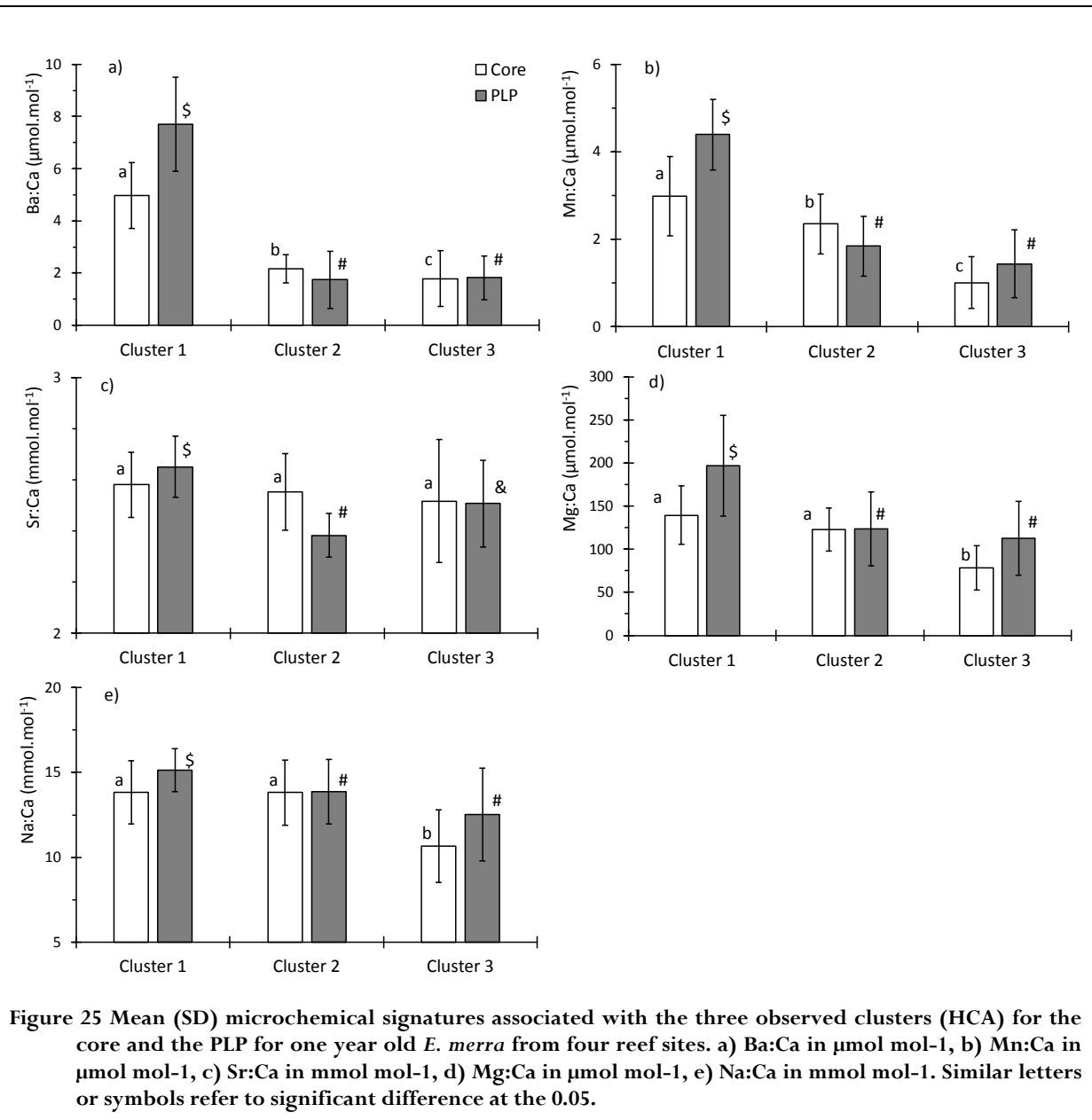
**Figure 23:** Time series of Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), Mn:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), Sr:Ca ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ), Mg:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) and Na:Ca ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ) corresponding to three clusters for one year old *E. merra* from four Reunion island reef sites ; a) cluster 1, b) cluster 2, c) and d) cluster 3. Note that figures a and d showed enriched Ba:Ca peaks during the PSP. Gray area delimit the three different fish life periods, namely the core (embryonic development) to the left, the pelagic larval life period (PLP) corresponding to the gray area, and the PSP corresponding to the juvenile life following settlement within the back-reef zone.

### 3.2. Possible source of larvae and pelagic dispersal histories

A principal components analysis was conducted to generate composite variables for the five chemical signatures: the means of Ba:Ca, Sr:Ca, Mn:Ca, Mg:Ca and Na:Ca from both of the core and the PLP (Figure 24a). Together, the first two components of the PCA explain 68 % of the total variance in the dataset (Figure 24b). Principal components were used to cluster *E. merra* individuals into groups with similar natal origin and dispersal history (Figure 24b). Intra-cluster inertia of the clustering-tree indicated that three was the optimal number of clusters (Figure 24b) that best explains our sampling database.



Cluster 1 contained the largest number of individuals (40 %), followed by cluster 3 (31 %) and cluster 2 (29 %). Cluster 1 presented individuals characterized by a substantial enrichment in otolith Ba:Ca and Mn:Ca ratios compared to clusters 2 and 3, both for the core and the PLP (Figure 25a, b; core and PLP Ba:Ca  $p < 0.001$ ; Mn:Ca  $p < 0.05$  and  $p < 0.001$  for the core and the PLP respectively). In addition, an enrichment of otolith Mg:Ca (Figure 25d,  $p < 0.001$ ) and Sr:Ca (Figure 25c,  $p < 0.01$  with C3 and  $p < 0.001$  with C2) ratios only during the PLP was observed. Clusters 2 and 3 can be described as showing depleted ratios primarily in Ba:Ca both in the core and during the PLP, and in Mn:Ca and Mg:Ca ratios during the PLP. They mainly differed one from the other clusters in their core chemical ratios, especially by lower ratios of Mg:Ca, Na:Ca and Mn:Ca ( $p < 0.001$ ) in cluster 3 (Figure 25b, d, e), but also due to a small enrichment of the Sr:Ca ratio in cluster 3 during the PLP (Figure 25c,  $p < 0.05$ ).



Fish assigned to the three clusters were found within the three most southerly sites (SL, ES, SP) while only fish grouped in clusters 2 and 3 were observed in LS (Table 3). Overall, among the 40 % (N = 23) of fish belonging to cluster 1, 16 % were found in ES, 14 % in SP and 10 % in SL. With regards to individuals grouped in cluster 2 (29 %, N = 17), they are distributed almost equally between LS, SL and SP (9 %, 10 % and 9 %, respectively), while they are almost absent from ES (< 2 %). Finally, fish attributed to cluster 3 (31 %, N = 18) were mainly found in LS (17 %) and to a lesser extent in the three other reefs (3 to 5 % per reef).

**Table 3: Percentage of individuals assigned to the different clusters within reef units (SG, SL, ES and SP) according to the whole database (in bold) and related to each specific site (in italics).**

HCA cluster	n	SG (n=15)		SL (n=15)		ES (n=13)		SP (n=15)		Total
<b>Cluster 1</b>	<b>23</b>	<b>0.0</b>	<i>0.0</i>	<b>10.3</b>	<i>26.1</i>	<b>15.5</b>	<i>39.1</i>	<b>13.8</b>	<i>34.8</i>	<b>39.7</b>
<b>Cluster 2</b>	<b>17</b>	<b>8.6</b>	<i>29.4</i>	<b>10.3</b>	<i>35.3</i>	<b>1.7</b>	<i>35.3</i>	<b>8.6</b>	<i>29.4</i>	<b>29.3</b>
<b>Cluster 3</b>	<b>18</b>	<b>17.2</b>	<i>55.6</i>	<b>5.2</b>	<i>16.7</i>	<b>5.2</b>	<i>16.7</i>	<b>3.4</b>	<i>11.1</i>	<b>31.0</b>

% in bold refer to the total database (n=58)

% in italics refer to % related to a specific cluster

No significant differences were found between the three clusters for PLD, core radius or mean growth rate of the otolith during the larval phase (Table 4). Although a slightly lower PLD ( $26 \pm 3$  days) and core radius ( $45 \pm 4 \mu\text{m}$ ) were found for individuals assigned to cluster 3 compared to clusters 1 and 2 ( $32 \pm 6$  days;  $49 \pm 6 \mu\text{m}$ ), as well as a somewhat lower mean growth rate of the otolith in those gathered into cluster 1 ( $22 \pm 3 \mu\text{m day}^{-1}$  against  $25\text{--}26 \pm 3 \mu\text{m day}^{-1}$  for clusters 2 and 3).

**Table 4 Pelagic larval duration (PLD) in days, otolith core radius ( $\mu\text{m}$ ) and mean otolith growth rate during the pelagic larval phase ( $\mu\text{m day}^{-1}$ ) for the three HCA clusters.**

HCA Cluster	Pelagic larval duration		Otolith core radius		Mean otolith growth rate	
	Days		$\mu\text{m}$		$\mu\text{m}/\text{days}$	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
<b>Cluster 1</b>	31.7	5.7	48.6	5.7	22.4	2.7
<b>Cluster 2</b>	32.0	4.2	48.4	5.8	25.5	1.1
<b>Cluster 3</b>	26.0	2.5	44.7	3.9	25.9	2.6

\* significance at 0.05

For the last third of the larval stage (pre-SP), mean chemical variables of the otolith were weakly different although significant between cluster 1 and the two other clusters for Ba:Ca, Mn:Ca and Mg:Ca, while similar values were found for the Sr:Ca and Na:Ca ratios (Figure 25).

#### 4. Discussion

One-year old *E. merra* from four reef sites close to each other were studied to determine whether otolith geochemistry can be used to detect different larval origins and to provide insight into dispersal patterns. As previously observed ((Patterson et al. 1999; Chittaro et al. 2004; Patterson et al. 2004b; Patterson et al. 2004c; Bergenius et al. 2005b; Patterson et al. 2005; Patterson & Swearer 2007; Hamilton & Warner 2009; Kingsford et al. 2009), a large variance in otolith chemistry was found between individuals within and between reef units, leading to poor site discrimination with regards to origin (only 31% of individuals were accurately classified by DFA), suggesting that each reef unit probably sheltered *E. merra* from various sources. A clustering approach based upon otolith geochemical signatures from the core and the PLP allowed the identification of three distinct groups of fish with different natal origin and dispersal history.

#### 4.1. Core chemistry and origins

The three groups of fish differed in their core chemistry, larvae from group 1 (cluster 1) were found to be primarily enriched in Ba and Mn, whereas those of group 3 (cluster 3) were depleted in Mn, Mg and Na. Uptakes of elements into the otolith core may reflect a complex interplay between several parameters. Ontogeny (De Pontual et al. 2003), growth rate (Leis 2002) and physiological process (Kalish 1989) may create natural variations in the otolith's chemical composition. As a result, Mn, Mg and Ba are substantially enriched in the core in association with higher levels of proteins (Ruttenberg et al. 2005; Miller et al. 2006). Parental influences, water composition, temperature and salinity (Bath et al. 2000) were also found to be determinant in maternal provisioning of eggs which ultimately would affect larval quality (McCormick 1999; Shima & Swearer 2009a). As proposed by Shima and Swearer (2009a), differences in core chemistry may be indicative of different natal sources, either of various geographical areas or individual mothers within heterogeneous populations. In light of the otolith chemistry recorded during the PLP, we can reasonably suggest that at least two geographical origins have been identified around Reunion Island for *E. merra* (see later).

#### 4.2. Otolith chemistry during PLP

As for the core, a rise in the otolith Ba:Ca ratio was noticed during the PLP for *E. merra* (by a factor four) unequivocally discriminating fish of group 1 from the other groups. Larvae from group 1 are also distinguished from the two other groups by their high levels of Mn and Mg, whereas the larvae of group 2 only differed from group 3 by their slightly lower Sr:Ca ratios during PLP.

Mg:Ca enrichment in otoliths of group 1 may be related to their lower otolith growth rate compared to groups 2 and 3 (Martin & Thorrold 2005). Although Mn:Ca incorporated into otoliths has been found to be useful for large scale discrimination (Thorrold et al. 1998b; Rooker et al. 2001; Rooker et al. 2003). The observed downward trend from the larval stage to the post-settlement phase may stem from physiological shifts between early life stages and settled stage and/or food (Brophy et al. 2004). Nevertheless, as individuals with a large Ba:Ca pulse during the larval stage also had a significantly higher Mn:Ca ratio, a superimposed environmental influence cannot be ruled out for this latter group.

As Sr:Ca ratio is fairly constant in oceanic waters (Brown & Severin 2009), changes in this ratio has been more widely attributed to differences in temperature and salinity (Campana 1999; Bath et al. 2000; Elsdon & Gillanders 2002), as well as changes in otolith growth rates (Sadovy & Severin 1994;

Bath Martin & Thorrold 2005), rather than changes in the chemistry of the water in which the fish reside at particular life stages. Because otolith growth rate for groups 2 and 3 were fairly similar during the pelagic stage, the lower Sr:Ca ratio in the otoliths of fish assigned to group 2 could be related to reduced water temperature and/or salinity (Elsdon & Gillanders 2002). Although of slight amplitude (1°C), geographical difference in surface thermal structure have been found around Reunion island with slightly warmer water on the leeward coast (North-West) while colder water occurred along the South-East coast (windward coast) and 30 miles of the South-West coast (Gamberoni *et al.* 1984). It is speculative at this stage to assess whether such a difference was sufficient to produce the observed shift in otolith Sr:Ca. If it is the case, larvae from group 2 could have travelled more offshore in the South-West part of the Island compared to group 3.

The variations observed in the otolith Ba:Ca ratio cannot only be related to changes either in the mineral/protein ratio, or the growth rate and ontogenic shifts in physiology. A shift in this ratio related to temperature effects would have been significantly lower (Miller 2011) than those measured. Facilitation of Ba incorporation at high levels of Sr:Ca has been documented (De Vries *et al.* 2005; Collingsworth *et al.* 2010), but it could not account for the observed trend as the Sr:Ca ratio is relatively constant in seawater (Brown & Severin 2009). Thus, we suggest that variations in the otolith Ba:Ca ratio of grouper during their pelagic dispersion (but also for their embryonic development) may reflect differences in the water chemistry of the water masses experienced by the fish as previously observed (Bath *et al.* 2000; Elsdon & Gillanders 2003; Wells *et al.* 2003; Tabouret *et al.* 2010; Miller 2011; Martin *et al.* 2013). High Ba:Ca spikes similar to those found in the *E. merra* otolith have been previously found in specific otolith portions of marine fish and related to the input of Ba-enriched waters through either marine oceanographic features such as upwelling (Patterson *et al.* 2004a; Patterson & Kingsford 2005; Clarke *et al.* 2007c) or continental inputs in coastal zones (Hamer *et al.* 2006; Dorval *et al.* 2007; Hamer & Jenkins 2007).

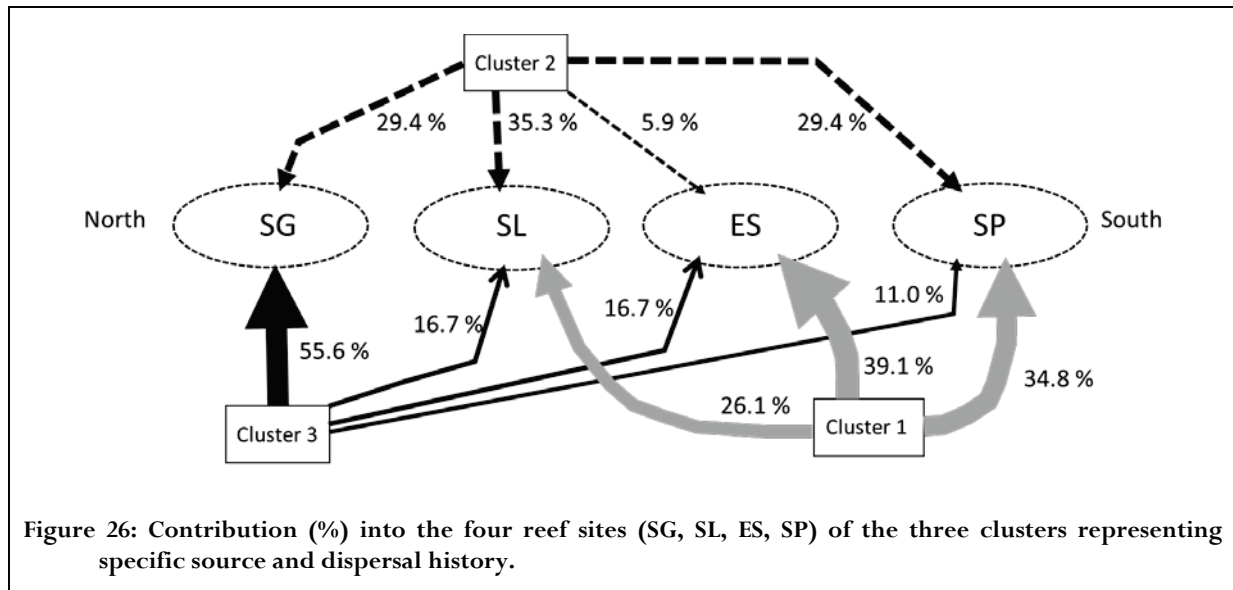
No study has yet reported the occurrence of active seasonal upwelling in the vicinity of Reunion Island although this hypothesis has been proposed (Vortsepneva 2008). Previous studies of reef fish affected by upwelling did not showed co-variation between otolith Mn:Ca and Ba:Ca ratios (Patterson *et al.* 2004a, b; Patterson *et al.* 2004c; Bergenius *et al.* 2005b; Patterson & Swearer 2007) as is the case in this study. Because Mn concentrations are significantly low and uniform in the deep ocean (Middag 2010) upwelling is not expected to add dissolved Mn to the surface waters. Input of Ba from land to coastal areas may be associated with the desorption of Ba (as well as Mn) from particles roughly discharged by floods or resuspended from sediment, or with submarine groundwater discharge (Lin *et al.* 2010) and ion exchange in the mixing zone of coastal aquifers between fresh and saline waters

(Gonneea et al. 2013). Submarine groundwater discharge from shallow aquifers has been observed on the shoreline of Reunion Island and within the back reef zone (Cuet et al. 1988; Naim et al. 2000; Tedetti et al. 2011). Some recent investigation showed Ba-enriched groundwater seepage within Reunion fringing reef to be more than twice that compared to conventional seawater (Riou, unpublished results). The occurrence of occasional otolith Ba:Ca peaks post-settlement (Figure 23a, d) reinforces the existence of Ba-enriched water masses around the Island. Although more data are clearly needed to locate the source areas that cause the observed strong imprint in Ba:Ca in *E. merra* otoliths and determine their persistence or seasonality, this ratio allowed the identification of two dispersal pathways around Reunion Island (group 1 / groups 2 and 3). Taking into account the various Sr:Ca ratios during the PLP, an additional dispersal patterns can reasonably be proposed leading to three in total. Because young of the year honeycomb grouper may result from multiple recruitment events over the course of 2006 spawning period (January to April, (Heemstra & Randall 1993)) we cannot exclude that fish originated mainly from the same locale, the different cluster would thus account for different cohorts that may experience different chemical conditions at different period during the spawning period. This assumption will be discussed in the next paragraph.

#### 4.3. Possible sources and dispersion scenario (spatial distribution)

In the following section, we used the geographical distribution of groups to infer approximate location of dispersal kernels and dispersion directions (Figure 26). As parental conditions and pelagic larval environment (temperature, food availability, oceanographic features) both influence larval fitness (Shima & Findlay 2002), Swearer et al. (1999) proposed combining otolith chemistry and larval growth rates to track the dispersal histories of recruits. However, discrete differences in larval development were not significant in our study and are not further discussed in the following.





In a first scenario, we assumed that different clusters are related to different sources and dispersal trajectories. Group 1 dispersed through a geographic Ba-enriched area during their early life, mainly replenished the two most southern sites (ES and SP, 39 % and 35 % respectively) decreasing toward the north (Figure 26) suggesting their more likely southern origin. This assumption is consistent with the prevailing northward current along the west coast which is a result of the westward trade winds (Montaggioni 1978). Larvae from this group had a slightly longer pelagic larval duration. Assuming constant otolith growth rate during the pelagic phase, larvae from group 1 might have spent  $19 \pm 4$  days ( $60 \pm 8$  % of the larval life duration) in the Ba-enriched water masses before moving out of this water body to join a geochemical environment common to all group of fish (Figure 23). As proposed by Shima and Swearer (2015) for the common triplefin for which some cohorts were convergent in their geochemical signatures for an extended period of time, individuals from group 1 may have travelled together with other groups or may have accumulated or both for an average of  $13 \pm 4$  days prior to settlement in whichever reef site they colonized. This argues for substantial natal retention mechanism as has been suggested elsewhere (Swearer *et al.* 1999; Shima & Swearer 2009a) in enrichment zones that are distant or not from the settlement reef, as well as aggregation in the vicinity of settlement sites or in hydrodynamic features.

Larvae from group 3 dispersed for shorter time periods, through Ba-depleted ambient water and had installed primarily in the northernmost reef (56 %, Figure 26), while contributing similarly to the other reef sites ( $\approx 10$ -17 %) implying a more northern origin. The deep and sandy St Paul's bay located nearby has been found to be a pre-settlement site where fish sometimes gather in pre-settlement aggregations (Pothin 2005). This sector could be a possible area where larvae are retained before reaching SG fringing reefs and more southern sites, thereby explaining their shorter PLD.

Finally, source location of group 2 is more difficult to explain because of similar contributions to most of the sites ( $\approx 30\text{-}35\%$ ) except at ES where they were almost absent ( $6\%$ , Figure 26). Larvae of this group dispersed through a Ba-depleted environment but took longer ( $+ 5$  days) than group 3 and within cooler or less saline water masses during their early pelagic phase. Because nearshore waters are often exposed to warmer waters, dispersion further offshore can be assumed for this group of larvae. The same origin as group 3 cannot be excluded, but with a different dispersal pathway.

The opposite decreasing trends in the abundance of groups 1 and 3, greatly support the existence of two dispersal kernels located respectively south and north of the Island, with more than  $50\%$  of larvae which mainly settle relatively close to their natal zones as previously observed for other fish species (Christie et al. 2010; Harrison et al. 2012; Almany et al. 2013).

In a second scenario, different clusters are supposed to represent different cohorts born and travelling over the course of a protracted spawning season. This implies that cohorts are not necessarily related to different sources and clusters display the temporal variability in the geochemistry of the source and specific pathways larvae may traverse according to time. This assumption is plausible as Cook (2011) recently underlined that significant changes may occur in some elemental fingerprint over a 3 months protracted spawning season, especially on the otolith Ba:Ca ratio. Assuming different cohorts come from a unique source, geographical distribution of groups would suggest that larvae originated from a southern dispersal kernel with subsequently northward dispersion. Additionally, important changes in geochemical conditions may be expected to occur according to time at the breeding area as well as at the surrounding pelagic area to generate otolith core and PLP Ba-enriched at one time while Ba-depleted larvae at another time. Furthermore, hydrodynamic conditions that promote a widespread dispersion would be required to explain Ba-depleted larvae (found everywhere until the more northern reef). Moreover, significant changes in the hydrodynamic features would be invoked to take into account a more limited northward dispersion of Ba-enriched larvae.

Multiple trajectories along the coast of Reunion Island, northward as well as southward, are plausible scenarios due to large meso-scale eddies that generally create a northward current along the west coast of Reunion Island but also heterogeneous trajectories with retention in the vicinity of the island as well as offshore entrainment (Dufour et al. 1995; Taquet 2004). Complex dispersal pathways over both short and long distances have already been found under the influence of meso-scale eddies in response to prevailing southeast trade winds in the vicinity of the Island of Hawaiï (Christie et al. 2010). Patterns of connectivity from both the north and south of Reunion Island may however be highly dependent on depth of migration, active swimming and hydrographic features that can take larvae far

from their natal area or inversely retain them while contributing successfully to their self-recruitment (Fisher 2005; Almany et al. 2013). Outstanding events such as cyclones may also disturb the sequence of recruitment as larval from the Mauritian coast may hit the northern part of Reunion Island in about nine days during cyclonic conditions (Crochelet et al. 2013).

## 5. Conclusions

Overall, on the basis of our results, otolith chemistry appears to be a useful tool to infer the larval history of groupers around Reunion Island. Honeycomb groupers that replenished the four fringing reefs of Reunion Island probably derived from three pools of larvae with different life characteristics. Larvae from two of these groups can be reasonably assumed to settle in the vicinity of their dispersal kernels, one located in the northern part of the island with larvae that dispersed over a shorter time through seawater with a low-Ba level and the second in the southern sector where larvae travelled for longer and crossed Ba-enriched water masses.

## Acknowledgments

The authors are grateful to the GIP National Marine Reserve of Reunion Island for their help in field logistics and fish sampling. This research was funded by the European Community and the Regional Council of La Réunion (PhD fellowship of Antoine Riou). We gratefully acknowledge C. Pécheyran, H. Tabouret and A. Holub for their technical and statistical assistance in the microchemical analysis of otoliths that were performed at the laboratory of bio-inorganic analytical chemistry and environment (LCABIE - IPREM), University of Pau. The authors thank anonymous referees whose comments considerably improved the manuscript. We also thank Rosie Cox, a native English speaker, for providing writing assistance that lead to the clarity and fluency of the English language.

## II.2 Synthèse

L'approche individuelle des variations élémentaires permet de mettre en évidence le rôle de nouveaux éléments. Les profils sont toujours découpés en 3 phases de vie : la phase maternelle, la phase larvaire et la phase juvénile-adulte. La plupart des éléments traces majeurs montrent un changement de concentration lors du passage de la phase larvaire à la phase juvénile-adulte. Ce moment de vie correspond chez *E. merra* comme chez de nombreuses espèces de poissons, à une véritable métamorphose : la larve se transforme physiquement et physiologiquement. De fait, l'incorporation dans l'otolithe d'éléments régulés physiologiquement comme le manganèse, le magnésium et le sodium s'en trouve fortement perturbée. C'est ainsi que chez tous les individus, une baisse significative de la concentration de ces éléments est mesurée à ce moment précis de la vie des poissons.

Le strontium lui est principalement régulé par l'environnement car présent en saturation dans l'eau de mer. La légère augmentation mesurée chez cette espèce exclusivement marine lors de la métamorphose peut provenir d'un effet inhérent à la méthode d'analyse : à partir de la métamorphose en juvénile, la croissance ralentit ce qui a un impact identique sur la vitesse d'accroissement des otolithes. La largeur d'une marque d'accroissement s'en trouve alors réduite. Pour autant, le taux d'incorporation d'éléments dans la matrice otolithique reste inchangé tant que la source et les processus de régulation de l'élément restent inchangés. Ainsi, sur une même distance de l'otolithe, la concentration du strontium peut être légèrement plus élevée sur une zone dont les marques de croissances sont plus rapprochées que lorsqu'elles sont plus larges. Ainsi, avec une vitesse d'ablation laser constante, le tir laser sur l'otolithe en phase de vie larvaire ablate en 1 seconde de la matière accumulée sur un temps de vie plus court que lorsqu'elle ablate la surface de la coupe de l'otolithe en phase juvénile-adulte. Ainsi, par ce phénomène, la concentration en strontium mesurée sur une distance identique, parce qu'elle reflète directement et presque exclusivement l'environnement saturé, peut se retrouver artificiellement augmentée en phase de vie juvénile-adulte.

L'élément baryum se révèle être dans cette étude un élément clé permettant d'effectuer des regroupements d'individus. En phase de vie larvaire, deux groupes d'individus se distinguent : ceux ayant un fort taux de baryum et dont le taux de base en phase maternelle est plus élevé que celui des individus du second groupe où le taux de baryum reste plus faible tout au long de la vie. En début de phase de vie juvénile-adulte, la grande majorité des individus des deux groupes montrent un minimum de concentration en baryum avant de retrouver une faible ligne de base pendant tout le reste de leur vie. Enfin, certains individus peuvent montrer des pics de forte concentration de baryum durant leur vie juvénile-adulte.

Une analyse discriminante suivie d'un processus de regroupement mené sur l'ensemble des individus permet de faire ressortir 3 groupes principaux. Celui qui rassemble le plus d'individus est caractérisé principalement par ces fortes concentrations en baryum lors de la phase de vie maternelle et larvaire mais aussi par un taux de manganèse plus important. Le magnésium et le strontium sont eux aussi légèrement supérieur pendant la phase larvaire uniquement. Les deux autres groupes sont caractérisés par des teneurs plus basses pendant les premières phases de vie, notamment en baryum. C'est finalement des teneurs en baryum, magnésium encore plus faible pendant la phase maternelle qui déterminera la séparation de ces deux autres groupes. De plus, la caractérisation du premier groupe est appuyée par un indice de développement plus lent que ceux des deux autres groupes en prenant en compte le taux de croissance moyen, le rayon du nucléus et la durée de vie larvaire.

Des éléments traces majeurs retenus, c'est donc bien le baryum qui a un rôle prépondérant dans la discrimination des individus principalement aux stades de vie maternel et larvaire. Ce résultat vient préciser ceux de la première étude de ce chapitre où seules les phases maternelles et larvaires étaient fortement différenciées.

La répartition géographique des sites de capture de ces groupes d'individus met en évidence un gradient nord sud où les sites les plus au sud, Saint-Pierre et Etang-Salé, fournissent la majorité des individus du groupe riche en baryum et au développement plus lent. A l'inverse, le seul récif de Saint-Gilles – La Saline au nord fournit plus de la moitié des individus les plus pauvres en baryum et au développement plus rapide. Le groupe intermédiaire dont les valeurs en baryum sont tout de même bien plus faible que celle des individus du premier groupe, se répartit autant sur les sites nord de Saint-Gilles-La Saline et Saint-Leu et de Saint-Pierre. Seul le site d'Etang-Salé fournit donc une majorité d'individus appartenant au premier groupe.

Ces résultats soulèvent la question du sens de cette différence de concentration en baryum, habituellement basse en milieu marin. Plusieurs hypothèses connues offrent des pistes de réflexion : depuis les eaux marines profondes, le baryum peut être amené en surface par des phénomènes d'upwelling. D'origine terrestre, le baryum peut être adsorbé des sédiments des cours d'eau lors des événements de forte précipitation, fréquent en saison des pluies dans les latitudes tropicales. Aussi, le baryum piégé sur les roches sous-terraines côtières peut être restitué lorsque le biseau salé de la masse d'eau marine va et vient au rythme des marées à travers le socle poreux volcanique de La Réunion. Enfin, les résurgences d'eau douce peuvent être source d'un apport régulier de baryum. Nos résultats apportent en tout cas un indice sur une variation géographique d'une éventuelle source de cet élément :

le long de la côte ouest de La Réunion, les poissons prélevés sur les récifs du sud semblent bien plus impactés que ceux des récifs nord.

Ces hypothèses montrent que si les sources de baryum sont localisées, elles peuvent être régulières (adsorption par le biseau salé, résurgences d'eau douce) ou ponctuelle (charriage des sédiments terrestres lors des fortes pluies, upwelling). L'existence de ces deux cas complexifie l'interprétation des données obtenues sur *Epinephelus merra* à La Réunion. Pour apporter plus d'éléments à ces hypothèses qui nous permettrait d'en savoir plus sur l'écologie des poissons récifaux de La Réunion et éventuellement sur les mesures de gestion qui peuvent découler de ces informations, nous cherchons à savoir si ce phénomène d'enrichissement en baryum mesuré chez *Epinephelus merra* dans ce premier chapitre est un cas particulier chez cette espèce en 2008 ou peut-il se retrouver dans le temps et dans l'espace ?



## CHAPITRE III SPECIFICITE ET TEMPORALITE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES OTOLITHES

---

Nous avons vu que l'analyse microchimique des otolithes par ablation laser permet de préciser avec finesse l'évolution des profils de concentration chimique en différents éléments tout au long de la vie d'un poisson. Les résultats obtenus sur l'espèce *Epinephelus merra* suggèrent une variation de la composition chimique des phases de vie larvaire et maternelle parmi un stock d'individus prélevés sur les récifs coralliens de la Réunion en 2008. Le baryum, élément chimique caractéristique de masses d'eau douce ou des fonds marins, est le facteur le plus discriminant des groupes d'individus. Nous cherchons à évaluer la spécificité d'un tel phénomène à La Réunion : peut-on retrouver des résultats similaires sur d'autres espèces ? A d'autres instants ?

Une campagne de prélèvement de larves de poisson sans précédent dans l'océan Indien nous amènera à mesurer la spécificité de ces signatures élémentaires des otolithes de poissons de différentes espèces. Nous nous intéresserons dans un premier temps à caractériser le flux larvaires des espèces étudiées puis à décortiquer la composition chimique de leurs otolithes.

### III.1 Programme POLARUN

Une campagne de prélèvement de larves de poissons s'est déroulée de février 2011 à février 2013. Financé par le Fond Européen de Développement Régional (Feder), le programme POLARUN (Post Larves RéUNion) a été mené par l'Association Réunionnaise pour le Développement de l'Aquaculture (Arda), l'IRD, la Réserve Naturelle Marine de la Réunion et l'Institut français pour l'exploitation de la mer (Ifremer). Son but a été de caractériser la dynamique de recrutement larvaire à La Réunion en capturant autour de chaque nouvelle lune pendant 25 mois toutes les post-larves de poissons attirées par un système de piège lumineux.

Ce programme de recherche a été l'occasion de trouver le matériel nécessaire pour notre problématique. L'effort d'échantillonnage déployé nous permet alors d'envisager de pouvoir travailler sur plusieurs espèces récifales sur une durée longue prenant en compte des variations saisonnières et annuelles. C'est pourquoi, nous nous sommes investis dans la collecte terrain de ce programme de recherche.



### III.1.1 Méthodologie

#### III.1.1.1 Outil de capture

Les individus visés sont les post-larves d'espèces coralliennes provenant du milieu pélagique sur le point de franchir la barrière de corail. A l'abri des prédateurs dans le récif corallien, elles se métamorphoseront plus ou moins selon l'espèce afin d'acquérir la coloration et les attributs morphologiques du stade juvénile. Ce phénomène est appelé l'installation des post-larves. Cette phase de vie est périlleuse car le jeune individu doit franchir la barrière corallienne, s'exposant alors aux nombreux prédateurs qui s'y abritent (Doherty & McIlwain 1996). Pour augmenter leurs chances d'installation, en plus de leur coloration transparente, la majorité des espèces semblent choisir de franchir la barrière corallienne autour des nuits de nouvelle lune, là où la luminosité naturelle est minimale (Victor 1983, 1984; Dufour 1992; Dufour & Galzin 1993). Si le franchissement n'a pas été possible pendant une nuit, les post-larves retournent plus en profondeur pendant la journée pour se cacher en attendant la nuit suivante. Malgré ces précautions, il a été montré qu'une forte proportion des post-larves n'atteignent pas le stade juvénile (Holt 1987; Hixon 1991; Planes & Lecaillon 2001).



Les pièges lumineux utilisés pour la capture des post-larves de poissons sont de type Care© (Collection by Artificial Reef-Ecofriendly), procédé développé et breveté depuis 2002 par la société française Ecocean (Figure 27). Ces pièges sont constitués d'un filet conique de 2m de haut, de maille de 2x2 mm se terminant par un réceptacle en PVC lesté de plomb et fermé par un bouchon vissé. L'ouverture du filet est maintenue par un arceau rigide. Le filet est noué à une bouée portant une enceinte sèche dont les parois transparentes permettent la diffusion du bloc lumière qui y est inséré (1 ampoule halogène 7W - 12V branchée à une batterie au plomb de 12V). Une fois la lumière allumée, le dispositif est amarré à un point d'ancrage

en surface avant le coucher du soleil. Pendant la nuit, la plupart des jeunes poissons qui remontent près de la surface font acte de phototropisme et se regroupent autour du bloc lumineux, élément inerte pouvant servir d'abris aux proies (thigmotropisme). Au lever du soleil, les jeunes poissons effectuent une migration verticale vers le fond. Le filet récolte alors ces poissons et les piège dans l'entonnoir terminal grâce à un système d'anti-retour situé à mi-hauteur du filet. Quelques minutes après le lever du soleil, les filets sont relevés et leur contenu récolté. A la différence des filets de crêtes, cette technique

est bien plus facile à mettre en place et peut ainsi facilement être reconduite pendant plusieurs mois voire plusieurs années.

### III.1.1.2 Plan d'échantillonnage

Le projet se concentre sur l'étude comparative de deux sites : la pente récifale de Saint-Gilles incluse dans le périmètre de la RNMR et la baie de sable basaltique de Saint-Paul, en dehors du périmètre de la RNMR (voir méthodologie générale). Trois pièges lumineux sont déployés sur chaque site (Figure 28).

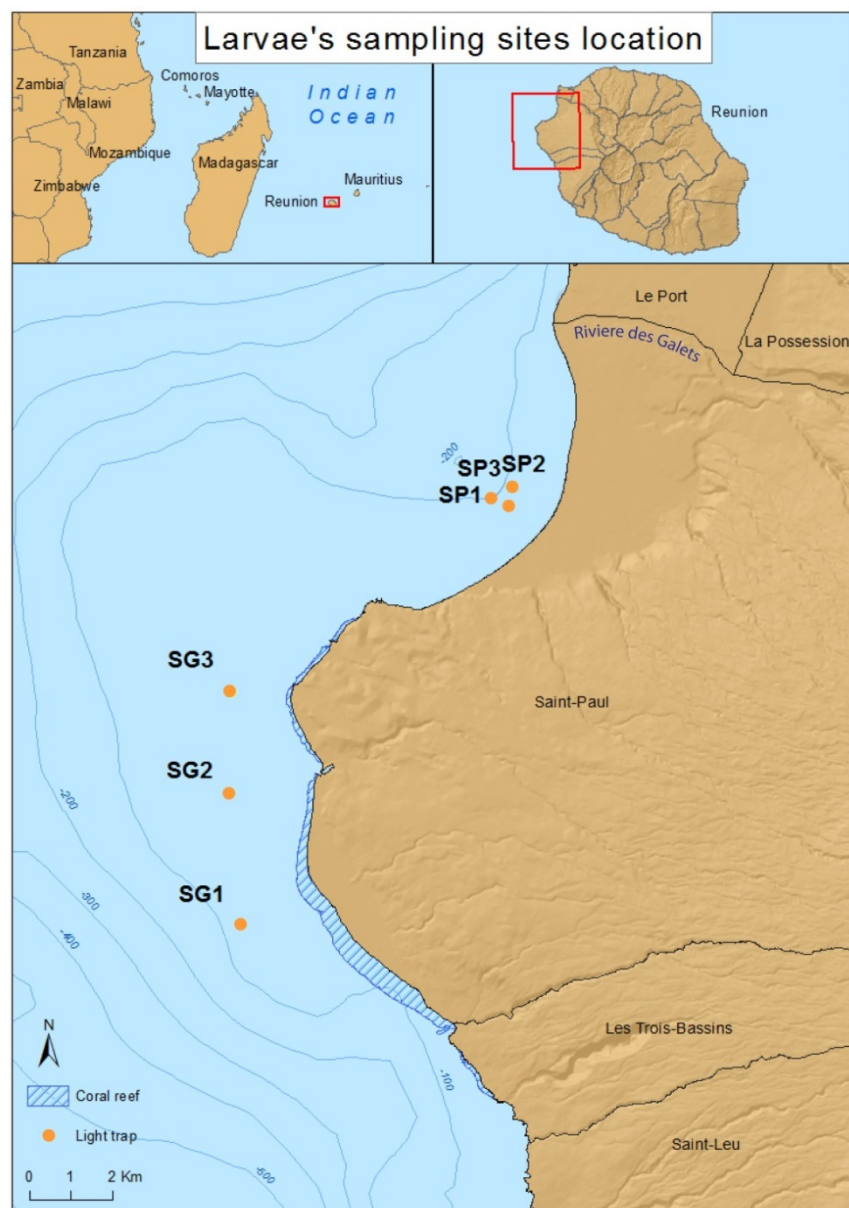


Figure 28: Localisation des stations de prélèvement de larves de poisson sur le site de Saint-Gilles (SG1, SG2 et SG3) et le site de Saint-Paul (SP1, SP2 et SP3).

Sur le site de Saint-Gilles, les pièges sont amarrés aux bouées de délimitation extérieure de la réserve naturelle au nord de la passe de l'Ermitage (point SG1, bouée BGP2), face à la plage des brisants (point SG2, bouée BGR3) et face au cap Aigrette (point SG3, bouée BGR3). Les pièges lumineux de ces 3 sites sont amarrés et récoltés par l'équipe des écogardes de la RNMR, épaulée par des volontaires de l'université de La Réunion. Ils se situent à environ 500 mètres de la barrière corallienne et flottent au-dessus d'environ 50 mètres de fond. Sur le site de St-Paul, des ancres ont été amarrés au niveau de la concession aquacole de l'ARDA (SP1, SP2 et SP3) à 1 000 mètres d'une plage de sable noir, sur un fond de 35 mètres. Les pièges de ces 3 stations sont posés et récoltés par l'équipe de l'ARDA jusqu'en juin 2011, puis par Ocea Consult' jusqu'en février 2013.

Chaque piège lumineux est placé sur une station pendant les 3 nuits qui précèdent la nouvelle lune de chaque mois et les 3 nuits qui la suivent. Ce cycle de capture a été répété pendant 25 lunaisons depuis la nouvelle lune de mars 2011 jusqu'à la nouvelle lune de février 2013 (Figure 29). Ce sont en tout 150 nuits de captures sur 6 stations en simultané qui ont été échantillonnées. Certains aléas (fortes houles, lumière éteinte à la relève, pièges absents) ne nous ont pas permis de mener à bien les mesures sur toutes les stations si bien qu'au total, ce sont 348 contenus de pièges qui ont été analysés sur les stations de Saint-Gilles contre 408 stations sur Saint-Paul. A chaque levée de piège, les poissons sont récoltés dans des compartiments individualisés puis triés dans un laboratoire humide des locaux de l'ARDA. Chaque poisson est alors identifié, comptabilisé puis congelé dans des sachets regroupant tous les individus d'une même espèce et d'un même piège. Les poissons vivants, dont l'espèce ne peut être identifiée au stade larvaire, sont mis en élevage dans des aquariums baignés par un circuit ouvert d'eau de mer. Les individus parvenant à leur stade juvénile peuvent, dans certains cas, être plus facilement identifiés.

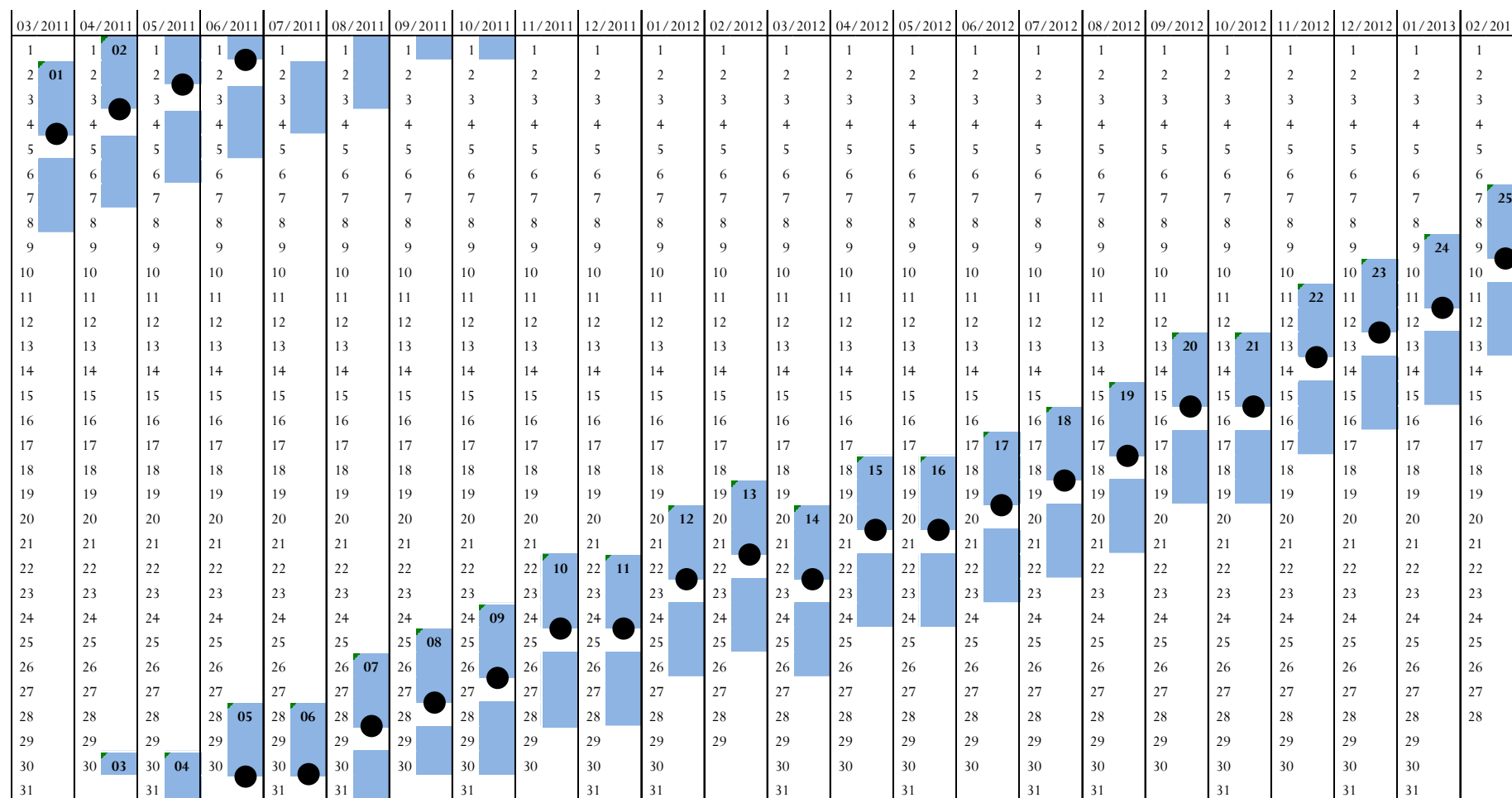
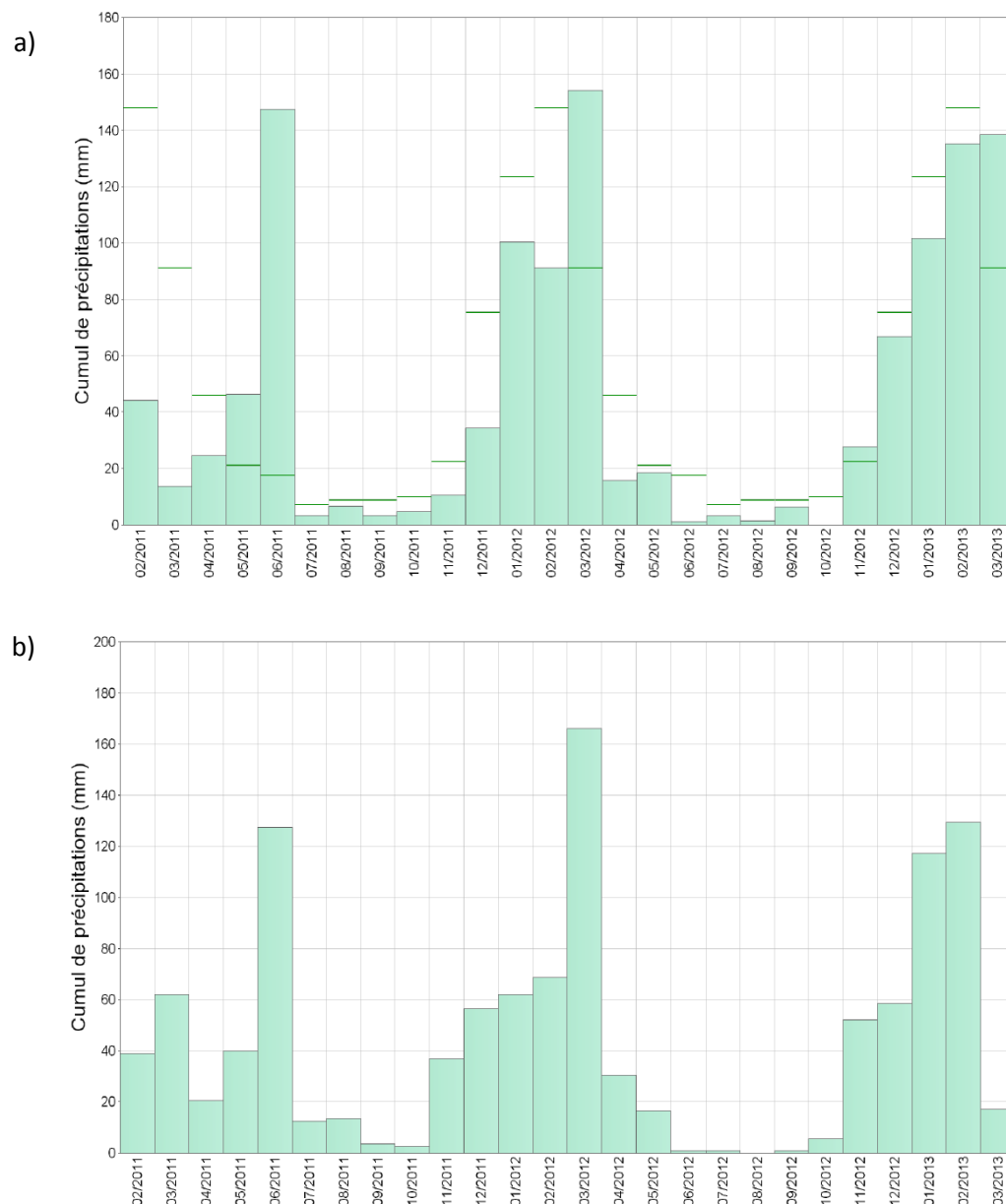


Figure 29: Calendrier des nuits de prélèvements (en bleu) des larves par piège lumineux type CARE autour de chaque nouvelle lune (disque noir) lors des 25 sessions entre le mois de mars 2011 jusqu'au mois de février 2013

### III.1.1.3 Suivi environnemental

De février 2012 à février 2013, des échantillons d'eau de mer ont été prélevés à la surface des sites selon le protocole décrit en méthodologie générale et à raison d'un échantillon par lunaison. En janvier et février 2013, deux évènements cycloniques sont survenus quelques jours avant chaque campagne de prélèvement. Un effort particulier d'échantillonnage a alors été mené afin de mesurer éventuellement un effet des apports d'eau de pluie des cyclones : des échantillons d'eau de surface ont été prélevés chaque jour pendant 6 jours lors des campagnes suivant chaque épisode cyclonique.

Les cumuls de précipitation de la côte ouest de La Réunion ont été mesurés au Port et à l'Ermitage par les stations de Météo France de type RADOME. L'acquisition des données s'est faite automatiquement en temps réel puis est expertisée à J+1 sur toute la durée de la campagne de prélèvement, de février 2011 à février 2013 (Figure 30). De ces relevés mensuels, on note que, sur toute les stations, il existe une forte saisonnalité du cumul des précipitations avec des valeurs moyennes entre 100 et 140mm par mois en saisons des pluies contre moins de 20mm en saison sèche sur les deux stations. Entre la saison des pluies 2011-2012 et la saison des pluies 2012-2013, peu de différences ont été mesurées par les stations sur les différents points concernant le cumul sur 1 mois. Cependant, l'intensité des précipitations est ici lissée par le pas de temps de mesure.

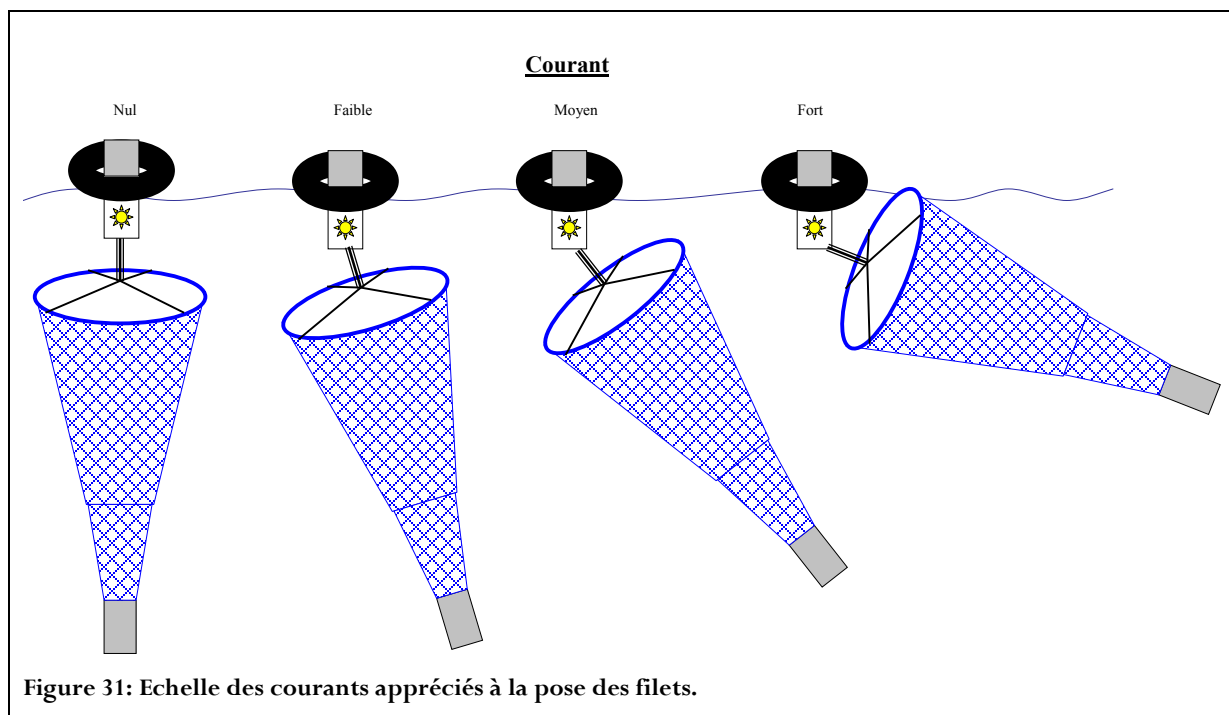


**Figure 30: Cumul des précipitations sur un mois enregistrées par les stations automatiques type RADOME de Météo France de février 2011 à mars 2013 a) Au Port, b) à l'Ermitage.**

#### III.1.1.4 Biais méthodologiques

Deux biais principaux ont été identifiés. Tout d'abord les courants de surface peuvent avoir une grande influence sur le résultat de la capture. Quand il n'y a pas de courant, le filet est suspendu à la verticale sous la bouée. Cependant, quand le courant se lève, le filet est irrémédiablement porté par ce dernier et, tel un drapeau, il se retrouve en position de plus en plus horizontale que le courant est fort. Ce phénomène a plus souvent été observé sur le site de Saint-Gilles, notamment la station du cap Aigrette, d'autant plus que les campagnes de prélèvement situées autour de la nouvelle lune étaient

forcément impactées par des courants de fortes marées. Dans ce cas, comment pouvons-nous être certains des captures obtenues le matin ? Les larves attirées par la lumière la nuit plongent-elles verticalement indépendamment du courant ? Est-ce que seules les plus faibles sont alors poussées dans le filet ? Dans ce cas, ce biais peut éventuellement se retrouver dans les taxons comptabilisés et peut être dans la composition chimique des otolithes des individus plus faibles. Ce paramètre a été évalué à chaque remontée de filet (Figure 31).



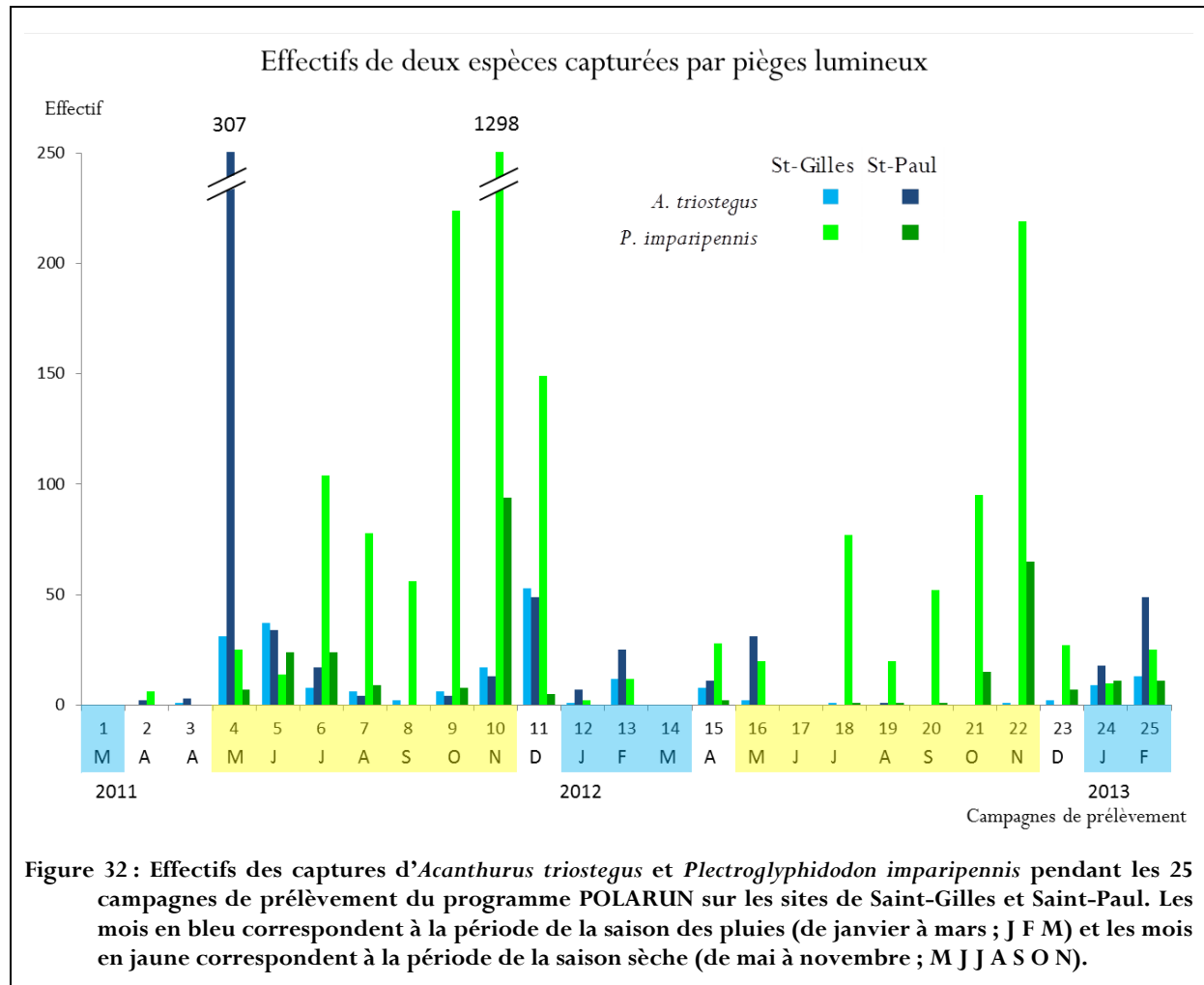
Un autre paramètre peut entrer en jeu dans les résultats de capture. La source lumineuse et le filet sont reliés par une corde nouée juste avant la mise à l'eau. Le nœud peut être réalisé par les acteurs de terrain à différentes distance sur cette corde bien que la consigne soit commune à tous. Ainsi, la distance entre les deux éléments du système peut varier de 20 à 50cm. Le diamètre d'ouverture du filet étant constant, la dispersion verticale des larves peut s'accroître avec la distance à parcourir lors de la migration verticale ce qui peut avoir directement une conséquence sur le résultat des captures. Ce paramètre n'a pas été mesuré lors de la campagne de prélèvement et reste donc un impondérable.

### III.1.2 Caractérisation des flux larvaires

Les espèces ciblées pour l'analyse microchimique n'ont pu être déterminées a priori car nous n'avons aucune certitude des espèces capturées et de la répétabilité de leurs captures dans l'espace et dans le temps. Nous cherchions à cibler des espèces relativement abondantes à La Réunion comme à l'étranger dans le cas où des études comparatives puissent être menées et dont l'écologie récifale pouvait

être complémentaire à celle d'*Epinephelus merra*. Au bout de 6 campagnes de prélèvement, nous avons fait un premier bilan des captures en faisant le pari que ce que nous observions soit réitéré plus ou moins sur les 19 campagnes de capture restantes. Parmi toutes les espèces capturées (données non publiées), deux ont principalement retenues notre attention : *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis*. (Voir description détaillée en méthodologie générale). Leur présence dans les filets pendant 5 des 6 premiers mois de prélèvement sur des effectifs allant parfois à plus de 100 individus nous permettait d'envisager un échantillonnage d'au moins 20 individus environ pour chaque site, chaque espèce et chaque campagne de prélèvement. Le nombre était donc au rendez-vous. Ces deux espèces sont présentes dans tout l'indopacifique et ont une écologie distincte : alors qu'*A. triostegus* est mobile à l'échelle d'un récif (œufs pélagiques, comportement de broutage en banc, lieu de vie entre la dépression d'arrière récif à la pente externe), *P. imparipennis* a un comportement plus grégaire (œufs fixés sur un substrat, lieu de vie plus restreint). Nous avons donc choisi ces deux espèces pour le reste de la campagne de prélèvements et commencé nos analyses dès la fin de la dixième lunaison. L'effort de capture a pu être maintenu jusqu'au terme des 25 campagnes de prélèvement. Nous avons dressé un bilan des captures de nos deux espèces cibles (Figure 32).





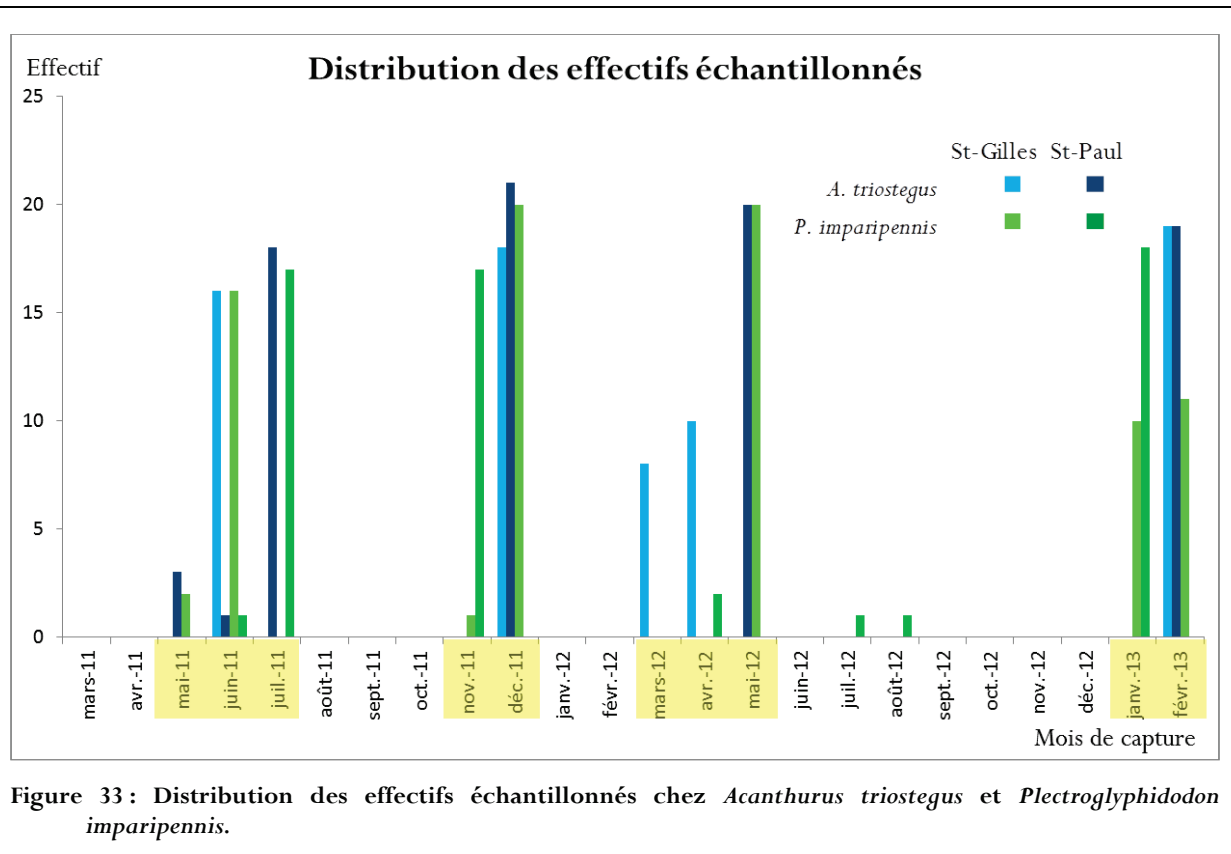
On s'aperçoit que des individus des deux espèces ont été capturés pendant presque toutes les campagnes. Certaines lunaïsons sont exceptionnelles pour *A. triostegus* avec 307 individus comptabilisés en mai 2011 à Saint-Paul et pour *P. imparipennis* à Saint-Gilles avec 224 individus en octobre 2011, 1298 individus en novembre 2011 et 219 individus en novembre 2012. On observe chez *P. imparipennis* deux épisodes de captures de larves : entre mai et décembre 2011 et entre juillet 2012 et février 2013. Cette période correspond nettement aux saisons sèches 2011 et 2012 (Tableau 5). Chez *A. triostegus*, on assiste à 4 épisodes de capture, plus courts : autour de mai à juillet 2011, autour d'octobre 2001 à février 2012, avril-mai 2012 puis janvier-février 2013. Par rapport aux saisons officielles de Météo France, il n'apparaît pas de tendances nettes de saisonnalité. On assiste plutôt à des effectifs en moyenne plus élevés en saison sèche de 2011 et en saison humide de 2013. En revanche, ces épisodes de flux larvaires correspondent aux périodes de changement de saison. Quoiqu'il en soit, chez les deux espèces, les tendances sont identiques que ce soit à Saint-Gilles ou à Saint-Paul si l'on fait abstraction des événements exceptionnels qui, eux, sont localisés.

**Tableau 5 : Moyennes et écarts types du nombre d'individus capturés à chaque campagne en saison sèche (du mois de mai à novembre) et saison humide (du mois de janvier à mars).**

Saisons	AT				PI			
	SG		SP		SG		SP	
Sèche 2011	15	± 14	54	± 112	257	± 464	24	± 32
Humide 2012	4	± 7	11	± 13	5	± 6	0	± 0
Sèche 2012	1	± 1	5	± 12	69	± 74	12	± 24
Humide 2013	11	± 3	34	± 22	18	± 11	11	± 0

Pour renforcer cette éventuelle régularité dans les épisodes de flux larvaires de ces espèces, ce suivi doit être poursuivi sur plusieurs années.

Afin d'explorer la temporalité et la multi spécificité des signatures microchimiques enregistrées dans les otolithes, nous cherchons à composer des échantillons d'une vingtaine d'individus par espèce et par site. Malheureusement, seules 3 campagnes sur 25 offrent suffisamment d'individus pour un tel échantillonnage, avec des mois très creux comme les mois de mars 2011, mars 2012 et juin 2012 où aucun individu des deux espèces n'a été capturé sur les deux sites. Pour des raisons également de coût d'analyse, nous avons alors choisi d'échantillonner les individus par saison dans le sens large du terme à raison de 20 individus par espèce et par site. Si nécessaire, des captures issues de plusieurs campagnes d'une même saisonnalité seront ainsi regroupées dans cet objectif. Ainsi chez les deux espèces, 80 individus ont été échantillonnés sur chaque site selon la répartition suivante, soit 320 individus (Figure 33).



A partir de cet échantillonnage, nous nous sommes alors intéressés à la comparaison de la composition élémentaire des deux espèces sur chaque site et à travers le temps. De par sa durée, cette étude otolithométrique inter spécifique représente une première dans l’océan Indien.

### III.2 Etude spatiale et temporelle de la composition microchimique des otolithes d'*Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis* à La Réunion

#### *Variability in the larval histories of reef fish species around Reunion Island*

Fisheries Research, soumis, 2016

**A. Riou<sup>1,2</sup>, G. Bareille<sup>3</sup>, K. Pothin<sup>2</sup>, N. Bru<sup>4</sup>, C. Pécheyran<sup>3</sup> & P. Chabanet<sup>1</sup>**

1 IRD, UMR ENTROPIE, Labex CORAIL, CS 41095, 97495 Ste Clotilde Cedex, Reunion Island (antoine.riou@ird.fr, pascal.chabanet@ird.fr)

2 Reserve Naturelle Marine de La Reunion, 39 rue du Lagon, Lot Dayot1, 97434 La Saline Les Bains, Reunion Island (karine.pothin@reservemarinereunion.fr)

3 LCABIE, UMR 5254 CNRS / IPREM, Helioparc Pau Pyrenees, 2 avenue du Président Angot, F-64053 PAU Cedex 9, France (gilles.bareille@univ-pau.fr)

4 Laboratoire de Mathématiques et de leurs Applications de Pau (LMAP) UMR CNRS 5142, F-64600 Anglet (noelle.bru@univ-pau.fr).

**Abstract:**

The maintenance and renewal of fish populations on coral reefs are dependent on the success of the larval phase and recruitment. To date, the larval phase remains largely unknown because of the difficulties of tracking larvae from hatching to settlement. In this study, otolith chemistry and biometry were investigated to infer seasonal variability of sources and larval life history of two reef fish species (*Acanthurus triostegus* and *Plectroglyphidodon imparipennis*). Samples were collected over two years (2011-2013) using light traps on two sites of the western reef area of Reunion Island (Saint-Paul's sandy bay and Saint-Gilles' coral reef within a Marine Protected Area). Contrasting weather was encountered with strong cyclonic conditions during the summer 2012/2013 compared to dry conditions in 2011 (winter and summer) and winter 2012. Hierarchical clustering analysis (HCA) used on mean chemical signatures (core and pelagic larval phase-PLP) allowed the identification of three larval groups of larvae with different geochemical fingerprints for the two species, as well as an estimation of the variability of their contributions between season and years. Ba:Ca time series ratios were also found to display several consistent pattern of variability that allows the definition of groups of larvae with fine scale differences in pelagic larval history. A strong link between the clusters and the seasons and years was established suggesting potential sources and dispersal histories would be highly temporally variable, although biometric parameters (total length, weight and pelagic larval duration-PLD) did not show any significant variation between clustering groups. Temporal variations in the Ba:Ca ratios clearly demonstrated that larvae from multiple trajectories replenished the study sites every season. Interestingly, while most larvae that replenished the study sites in 2011 (winter and summer) and in winter 2012 were characterized by geochemically low Ba:Ca ratio throughout the PLP, exceptional cyclonic events occurring during the summer 2012/2013 largely promoted the arrival of unusual cohorts that were born and/or dispersed in Ba-enriched environments.

**Keywords:** *Acanthurus triostegus* – *Plectroglyphidodon imparipennis* - Otolith chemistry - LA-ICP-MS - Life history – Reunion Island – Barium – multiple trajectories.

## 1. Introduction

As dispersion process determines the persistence of fish species, population dynamics and their evolution, understanding the recruitment variability attributable to various putative sources and larval migratory pathways are essential for fish management (Cowen & Sponaugle 2009; Sale *et al.* 2010). Larval fitness (e.g., growth and/or survival) and delivery to recruitment sites may largely depend on conditions encountered in the pelagic environment (e.g., food availability, temperature, hydrodynamics, predator regime) and the time larvae spend in this environment (pelagic larval duration: PLD) (Cowen & Sponaugle 2009). Different dispersal route may thus result in different environmental conditions experienced by larvae which may not only ultimately affect the number and phenotypes of colonizers (Swearer *et al.* 1999; Shima & Swearer 2009b; Burgess *et al.* 2012; Shima & Swearer 2015), but also the survival to adulthood (Shima & Swearer 2010).

However, little is known about what fish actually experience during their pelagic or pre-settlement stage. Technologies have been developed over a decade to determine the connectedness of fish populations using genetic, isotopic and geochemical approaches (Jones *et al.* 2009), but they generally give insight into the sources and destinations of dispersers. Although with highly variable success, otolith geochemistry has been used to infer natal origins and pattern of connectivity of marine coral reef fish (Secor *et al.* 1995; Secor *et al.* 1998). Most of the studies in the marine environment have been based on multi-elemental signatures in the core and edge portions of otoliths and have allowed the characterization of connectivity patterns. However, otolith fingerprints have been found to be highly variable at both intra and inter-annual scales (Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Kingsford *et al.* 2009) resulting in lack of consistency in chemical fingerprints.

The otolith has the capacity to daily and permanently record time-resolved variations in temperature and/or water chemistry from the beginning of fish's life (Campana & Neilson 1985; Nolf 1995; Hanson & Zdanowicz 1997; Bath *et al.* 2000; Bergenius *et al.* 2005a). Yet only a few studies have been interested in the temporal variability of the geochemical signal during the whole larval lifetime in order to discriminate putative "dispersal histories" (Shima & Swearer 2009a; Shima & Swearer 2015). Shima and Swearer (2009a; 2015) were recently able to consistently identify and characterize putative larval dispersal histories over time. However Berumen *et al.* (2010) found contrasting geochemical signals in larval otoliths of different origins (self-recruiters and immigrants). Nevertheless, in this latter study, such discrepancy may have come from of a lack of heterogeneity in the physicochemical conditions of the water masses between the areas where self-recruiters and immigrants came from. Self-recruitment as well as larval dispersal distances have been found to sustain the replenishment of reef

areas (Jones *et al.* 1999; Almany *et al.* 2007; Planes *et al.* 2009; Berumen *et al.* 2010; Christie *et al.* 2010; Berumen *et al.* 2012). Nonetheless, most of the time, studies focused on a single species and looking at temporal variability in replenishment have rarely been addressed. However, seasonal changes in weather conditions may largely affect the spatio-temporal variability in water mass characteristics as well as the trajectories of the water masses, and thus larval signatures through time and space. Otoliths have the ability to give insight into dispersal variability over space and time where heterogeneous geochemical water bodies occur.

Recent investigations into the larval otolith portion of the reef fish grouper *Epinephelus merra* detected contrasting Ba:Ca ratios implying that two groups of larvae have taken different routes or colonized Reunion fringing reefs at different times throughout the spawning season (Riou *et al.* 2015). Exceptional climatic events (cyclones) have been reported to generate mass-settlements for some species around Reunion Island (Crochelet 2010). However, almost nothing is known about origins, dispersal histories and effects of changing climatic conditions (cyclonic events) on recruitment of many larval species colonizing Reunion fringing reefs. As part of an intensive larval recruitment study in Reunion Island (POLARUN: Recruitment of coral reef fish at Reunion and application on aquaculture), larvae of reef fish species were randomly subsampled during over a two years period (2011- 2013).

The purpose of this study was to explore the geochemical variability within otoliths of recruiting reef fish larvae in order to reconstruct likely sources and dispersal histories over two years. Changes in origins and dispersal paths between season and years were examined through (1) a clustering approach using multi-elemental fingerprints averaged over the core and larval pelagic phase, and (2) an empirical classification of individual based on Ba:Ca geochemical profiles. We closely considered the influence of cyclonic events on the number of distinct sources and their contribution to the variability of replenishment of reef fish population.

## 2. Material and Methods

### 2.1 Study system

Reunion Island (21°07'S, 55°32'E) is a volcanic island in the south-west Indian Ocean. This subtropical island is located 680 km east of Madagascar, 170 km south-east of Mauritius and 800 km south-east of Rodrigues. The fringing coral reefs are located on the west coast where they form a

discontinuous reef belt south of the volcanic sandy bay of Saint-Paul (SPb) spanning 25 km from Saint-Gilles (SG) to Saint-Pierre (SP). Reunion Island has a tropical climate marked by two seasons, a cool, dry season (June to October) and hot, rainy season (November to May) during which tropical cyclones can occur. The island has world record levels of rainfall for all time scales from 12 h to 15 days (MeteoFrance 2012), due to heavy summer rainfall associated with tropical cyclones, their effects being strongly modulated by the local topography (Barcelo et al. 1997; Mayes 2007). High groundwater discharge frequently flows along the shoreline (Cuet et al. 1988; Naim et al. 2000). It varies along the reefs depending on the amount of rain during the wet season and the thickness of the coastal sedimentary formations which lie over the highly permeable volcanic aquifer (Join et al. 1988). As a result of this, the coral reef may be thus under the influenced by freshwater inputs during intense rainfall events through surface as well as groundwater.

Fish larvae were collected in Saint-Paul's bay (SPb) and off the Saint-Gilles (SG) barrier reef over two-years during a period of 25 new moons when their survival rates are enhanced (Doherty & Williams 1988; Montgomery 1990) (Figure 28).

Surface water circulation is complex and poorly understood along the west coast of Reunion Island. Surface currents are driven primarily by the southeast trade winds and the island effect which would be expected to generate anti-clockwise gyres with a general northward current along the coast (Dufour et al. 1995; Taquet 2004). At the local scale, recent investigations based on drifter deployment have shown retention zones and heterogeneous current trajectories along this coast (unpublished data, IFREMER). Nevertheless, surface water circulation is poorly understood during cyclonic events.

## 2.2 Sampling and target species

Larvae were collected using light traps (CARE: Collective Artificial Reef Eco-friendly) floating on the sea surface just before sunset. This device works on the positive phototropism of numerous species at larval stage to attract them into the area of the trap at night. At sunrise, the light of the trap is confused with the natural light so that the attractive effect of the trap disappears. Larvae then migrate vertically downwards to find deeper darker places to avoid predators (Fortier & Leggett 1983). On their way down, larvae will be trapped in a 1 m diameter conical net fixed just under the light trap. All larvae within a 50 cm range from the light are thus trapped inside the net, with a no-escape mechanism.

Three light traps were used around 800 m from the shoreline on each site to catch larvae just before settlement. As post-larval colonisation peaks around the new moon (Milicich & Doherty 1994;



Rauby 2006; Sponaugle et al. 2006), sampling was conducted for three nights before and three nights after the new moon, for 25 months, from February 2011 to February 2013. To avoid predation, the light traps were collected at dawn every morning from February 2011 to February 2013.

From all the species collected in the nets (over 150 different species), two were chosen for this study because of their recurrence throughout the two year experiment: *Acanthurus triostegus*, (Acanthuridae) (*At*) and *Plectroglyphidodon imparipennis* (Pomacentridae) (*Pi*).

Among the total number of *At* and *Pi* larvae collected by the light trap over the two years at the two sites, a total of 322 individuals (150 *At* and 172 *Pi*) were sub-sampled and stored frozen for further biometric and chemical otolith analysis. Due to variation in the number of fish collected each month, we decided to merge samples into 4 periods in order to get homogenous samples matched with recruitment episodes: from May to July 2011 (winter 2011; *At* n=15 for SG and n=22 for SP, *Pi* n=18 for SG and n=18 for SP), from November to December 2011 (summer 2011-2012; *At* n=17 for SG and n=21 for SP, *Pi* n=20 for SG and n=4 for SP), from May to July 2012 (winter 2012; *At* n=18 for SG and n=20 for SP, *Pi* n=22 for SG and n=16 for SP) and from January to February 2013 (summer 2012-2013; *At* n=18 for SG and n=19 for SP, *Pi* n=38 for SG and n=36 for SP).

The surgeonfish *A. triostegus* has a wide distribution in the Indo-Pacific region (Randall & Heemstra 1993). It is usually found in groups on structurally complex reef flats and slopes at a depth of <20 m, but may occasionally be found deeper (Smith & Heemstra 1986). Larvae hatch from pelagic eggs and turn into juveniles of 3.2 cm (Krupp 1995). Juveniles inhabit shallow waters and will then swim in groups to the reef slope where, from tens up to hundreds of individuals are commonly seen on the reef slope down to 20 m (Smith & Heemstra 1986). As herbivores, they swim all along the reef to graze on algae. Aggregates of mature adults collect for gamete emission, commonly along the reef break to improve pelagic egg dispersion (Domeier & Colin 1997). In Reunion Island, this species is traditionally harvested for personal consumption (Fleury et al. 2012) or to be sold (Sumaila et al. 2007).

The damselfish *P. imparipennis* is a small fish up to 6 cm widely distributed in the Indo-Pacific region (Myers 1991). Poorly documented, this omnivorous territorial fish feeds on algae and crustaceans inside a delimited area. Once a couple is created, the male will protect eggs fixed on substrate (Breder & Rosen 1996). Larvae will then hatch directly into the reef before dispersing into the pelagic environment until recruitment to a reef.

### 2.3 Morphometry and PLD

Larvae were weighed to 0.1 mg and measured to 0.1 mm using a precision balance and caliper. Standard lengths were obtained measuring the fish from the edge of the mouth to the base of caudal fin. To assess age of both species, we used otolith daily growth increments which have been tested for *A. triostegus* (McCormick 1999) and assumed for *P. imparipenis* as a Pomacentridae (Thresher et al. 1989; Wellington & Victor 1989). Sagittal otolith pairs were excised from the fish, cleaned according to Jones and Chen (2003) with milliQ water and dried. Right sagittae were embedded in Crystal Bond resin and polished in transversal thin sections to the core. Increments were counted from digital camera photography (Baumer) through the TNPC program (Ifremer) linked to an optical microscope (Leica).

### 2.4 Otolith and water chemistries

After being rinsed in distilled water, left sagittae were embedded in epoxy resin (Araldite 2020, Escil), ground on a transversal plan to reach their cores and polished with diamond paper of decreasing grain diameter (9.0, 3.0 and 0.1  $\mu\text{m}$ ) (Escil, Chassieu, France). Finally, the otoliths were double-rinsed with milliQ water, dried and stored in clean plastic vials prior to laser ablation-ICP-MS analysis. Otolith samples were analysed with an IR 1030 nm femtosecond laser (*fs*-LA, Alfamet-Novalase, France) coupled to an Elan DRC II (Perkin Elmer SCIEX Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer) following the protocol outlined by Tabouret et al. (2010). A continuous linear transect was undertaken across the otoliths from the core to the edge passing through the nucleus at a speed of 5  $\mu\text{m s}^{-1}$  using a scan width of 30  $\mu\text{m}$ . The laser beam operated with a fluence of 20  $\text{J.cm}^{-2}$  and a repetition rate of 500 Hz. Analytical accuracy was achieved with fish otolith certified reference material n°11 and n°13 (National Institute for Environmental Studies, Japan) (Yoshinaga et al. 2000) that were analysed several times a day. Nine isotopes were monitored ( $^7\text{Li}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{85}\text{Rb}$ ,  $^{86}\text{Sr}$  and  $^{138}\text{Ba}$ ). Due to the otolith aragonite composition ( $\text{CaCO}_3$ ),  $^{43}\text{Ca}$  was used as an internal standard during each ablation to control for variation in ablation yield and aerosol transfer efficiency. Background intensities collected for 20s prior to running the laser were subtracted from the otolith signal. Absolute concentrations of trace elements in ppm were achieved by external calibration with the use of a standard curve based on the analysis of NIST (National Institute of Standards and Technology) glass materials (610, 612, 614) (Martin 2013).

Among the nine elements investigated, only four, in addition to Ca, were systematically found above the LOD during the larval phase and kept in the chemical dataset (LOD based on a  $3\sigma$  of the blank

in  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of Ca: 5.60 for Sr, 0.035 for Ba, 0.50 for Mn and 7.1 for Mg). Elements were standardised to Ca (i.e., Sr:Ca, Ba:Ca, Mn:Ca, Mg:Ca) based on the stoichiometry of calcium carbonate (389 mg Ca g<sup>-1</sup> otolith or 9.71 mmol Ca g<sup>-1</sup> otolith) (Brown & Severin 2009), as these elements can substitute for calcium in the otolith matrix (Campana 1999) and were converted to molar ratios (mmol mol<sup>-1</sup> Ca for Sr,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  Ca for Ba, Mg and Mn).

Water chemistry was investigated from February 2012 to February 2013 at each new moon for both sampling site (SPb and SG). Discrete samples were also collected daily in January and February 2013 following exceptional runoffs due to cyclonic conditions. Samples were collected near the surface (-0.5 m) onboard a rubber motorboat (Zodiac), filtered through 0.45  $\mu\text{m}$  Nalgene polytetrafluoroethylene filters with syringes into acid-washed low-density polyethylene bottles, acidified (2%) using concentrated, ultrapure HNO<sub>3</sub> (JT Baker, Ultrex II) and refrigerated until analysis. Water analyses focused on the elements Ca, Sr, Ba and Mn. Samples were treated and analysed using a Dynamic Reaction Cell ICPMS (DRC II ICP-MS; Perkin-Elmer) as outlined by Tabouret et al. (2010). As for otoliths, Sr, Ba and Mn were standardised to calcium (i.e., Sr:Ca, Ba:Ca, Mn:Ca) and converted to molar ratios (mmol mol<sup>-1</sup> Ca for Sr:Ca and  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  Ca for Ba:Ca and Mn:Ca), thus giving the concentration ratio values.

## 2.5 Data analysis

Biometry and otolith measurements (morphometric and chemical continuous scans) were compared between sites, species and seasons using the Mann-Witney Test (Bauer 1972; Hollander & Wolfe 1973) ( $\alpha=0,05\%$ ) as data did not always follow homoscedasticity and/or normality laws.

Taking into account the hatch mark position, two portions of the otolith were defined for which mean Element:Ca ratios were calculated by integrating the corresponding portion of the transects. The first one corresponds to the core portion that can be attributed to the natal origin (referred as C). The second, from the hatch mark to the otolith edge, corresponds to the pelagic larval phase (PLP, referred as L). The transition zone between the two portions was not taken into account in the calculation of average values.

Principal component analyse (Meunier *et al.* 2006) were conducted separately on each species (*At*, *Pi*) to reduce the variability and produce composite and uncorrelated variables from the mean chemical signatures of the core (C) and the PLP (L) (Ba:CaC, Ba:CaL, Sr:CaC, Sr:CaL, Mn:CaC, Mn:CaL, Mg:CaC and Mg:CaL) for the sites (Saint-Gilles, Saint-Paul), seasons (winter, summer) and years (2011,

2012) as categorical variables. As no significant differences were found between the two sites in the otolith chemistry either between seasons or years, differences between sites were not taken into account in the following discussion. In the absence of a source baseline, otolith chemical ratios (from the core and the PLP) were used together as continuous variables in order to identify groups of fish with similar origin and pelagic history. Seasons (winter and summer) and years (2011 and 2012) were introduced in the analysis as categorical variables to determine the influence of climatic conditions. Hierarchical cluster analysis (HCA) was then performed on the five first principal components of the PCA. Euclidean distances were used in the HCA to group individuals according to their similarity by calculating pairwise distances between cases and aggregating the closest ones. Ward criterion was used for aggregation, it minimizes the within-inertia increases (Meunier et al. 2006). The optimal number of retained clusters is suggested automatically as the one with the higher relative loss of inertia. In order to determine which variables (chemical element and core or PLP portions) best describe the clusters, statistical tests (chi square and square correlation coefficient tests) were used: the p-value corresponding to the test of the following hypothesis: “the mean in category is equal to the overall mean” (for further methodology detail see Lê et al., 2008). A v.test value  $>1.96$  means that p-value is less than 0.05 and its sign indicates if the mean of the cluster is less than or greater than the overall mean. Calculations were performed with R software. Mean pelagic larval duration (PLD) of each chemically defined cluster was also calculated and tested to evaluate whether different sources and dispersal histories were associated with different dispersion times.

Since the average geochemical value over the whole pelagic larval duration may not account for dispersal through physico-chemically distinct water masses over time, chemical time series were qualitatively classified according to Ba:Ca variations as only this ratio provide several consistent patterns of variation. This empirical approach assumes that variation in the otolith Ba:Ca ratio mirror spatio-temporal variation in the environments crossed by the fish.

### 3. Results

#### 3.1 Morphometry and PLD

The parameters for *A. triostegus* larvae were: PLD  $42 \pm 6$  days, standard length  $23 \pm 1$  mm and mean weight of  $565 \pm 67$  mg. A general trend showed an increase in each parameter in the rainy season compared to the dry season (Table 6).

**Table 6 : Mean PLD (days), standard length (mm) and weight (mg) for *Acanthurus triostegus* and *Plectroglyphidodon imparipennis* during winter and summer seasons, 2011 and 2012 at the two sampling sites (SG, SPb). Percentage of individuals assigned to the different clusters within reef units (SG, SL, ES and SP) according to the whole database (in bold) and related to each specific site (in italics).**

		<i>Acanthurus triostegus</i>			<i>Plectroglyphidodon imparipennis</i>		
		2 sites	Saint-Gilles	Saint-Paul	2 sites	Saint-Gilles	Saint-Paul
PLD (Days)	Dry 2011	39 ± 4	39 ± 4	40 ± 4	31 ± 3	32 ± 2	30 ± 4
	Rainy 2011	45 ± 6	44 ± 6	45 ± 6	30 ± 5	30 ± 5	29 ± 5
	Dry 2012	41 ± 7	43 ± 3	39 ± 10	33 ± 4	30 ± 4	36 ± 4
	Rainy 2012	41 ± 9	41 ± 8	41 ± 10	31 ± 4	31 ± 4	32 ± 3
Length (mm)	Dry 2011	22.1 ± 0.7	21.9 ± 0.6	22.2 ± 0.8	14.4 ± 0.4	14.7 ± 0.5	14.2 ± 0.4
	Rainy 2011	23.8 ± 1.7	22.9 ± 1.0	24.7 ± 2.3	14.9 ± 0.6	14.9 ± 0.5	14.9 ± 0.6
	Dry 2012	22.5 ± 0.7	22.7 ± 0.8	22.3 ± 0.5	14.9 ± 0.5	14.4 ± 0.5	15.4 ± 0.4
	Rainy 2012	23.6 ± 1.0	23.3 ± 0.9	23.9 ± 1.1	14.1 ± 0.6	14.1 ± 0.6	14.1 ± 0.6
Weight (mg)	Dry 2011	510.2 ± 74.6	478.4 ± 93.1	542.1 ± 56.2	134.5 ± 22.1	129.7 ± 34.4	139.4 ± 9.7
	Rainy 2011	571.5 ± 71.2	578.2 ± 65.3	564.8 ± 77.2	181.6 ± 17.5	186.7 ± 17.7	176.4 ± 17.2
	Dry 2012	542.7 ± 46.1	557.2 ± 63.4	528.2 ± 28.9	175.6 ± 13.0	156.2 ± 12.8	195.0 ± 13.1
	Rainy 2012	634.6 ± 74.4	612.6 ± 58.9	656.5 ± 89.9	149.0 ± 14.1	146.3 ± 15.0	151.6 ± 13.3

Table 7 : p value of Mann-Witney test on PLD, standard length and weight for *Acanthurus triostegus* and *Plectroglyphidodon imparipennis* at Saint-Gilles (SG) and Saint-Paul's bay (SPb) between the dry (winter) and wet (summer) seasons. NS = p value not significant; \* = p value significant at 0.05.

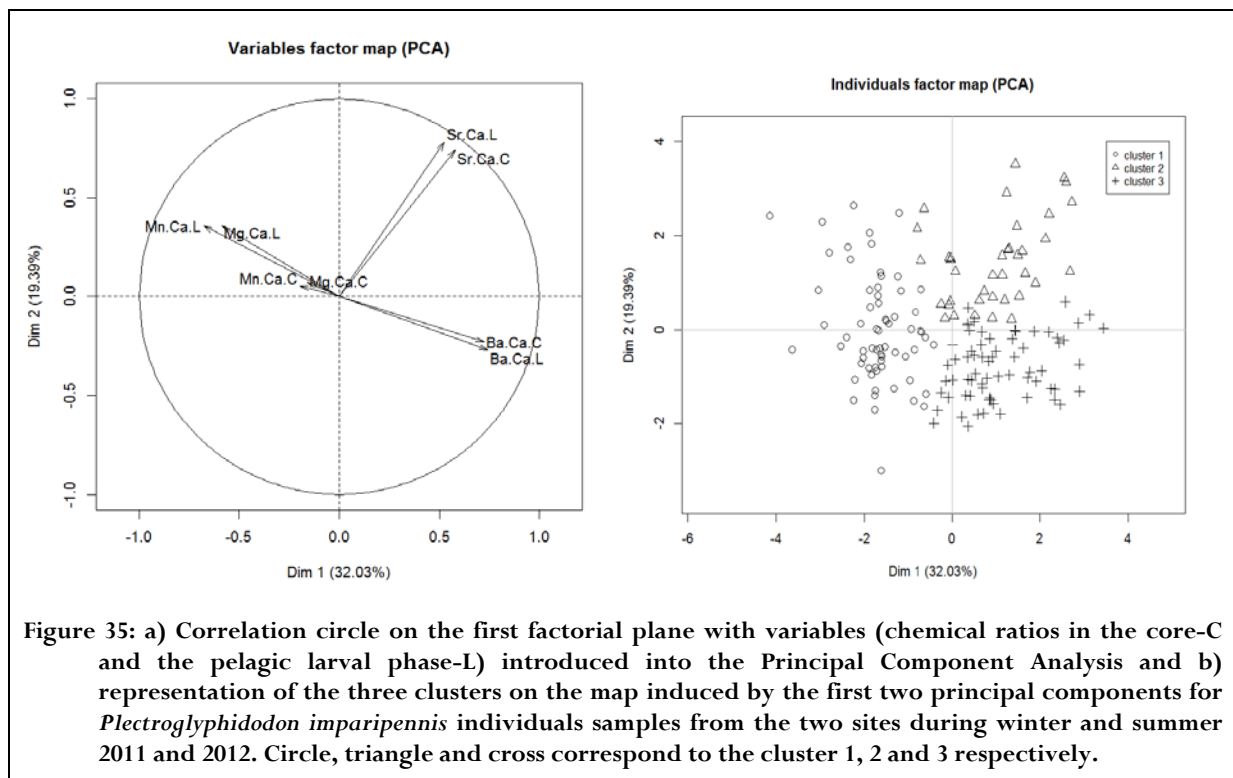
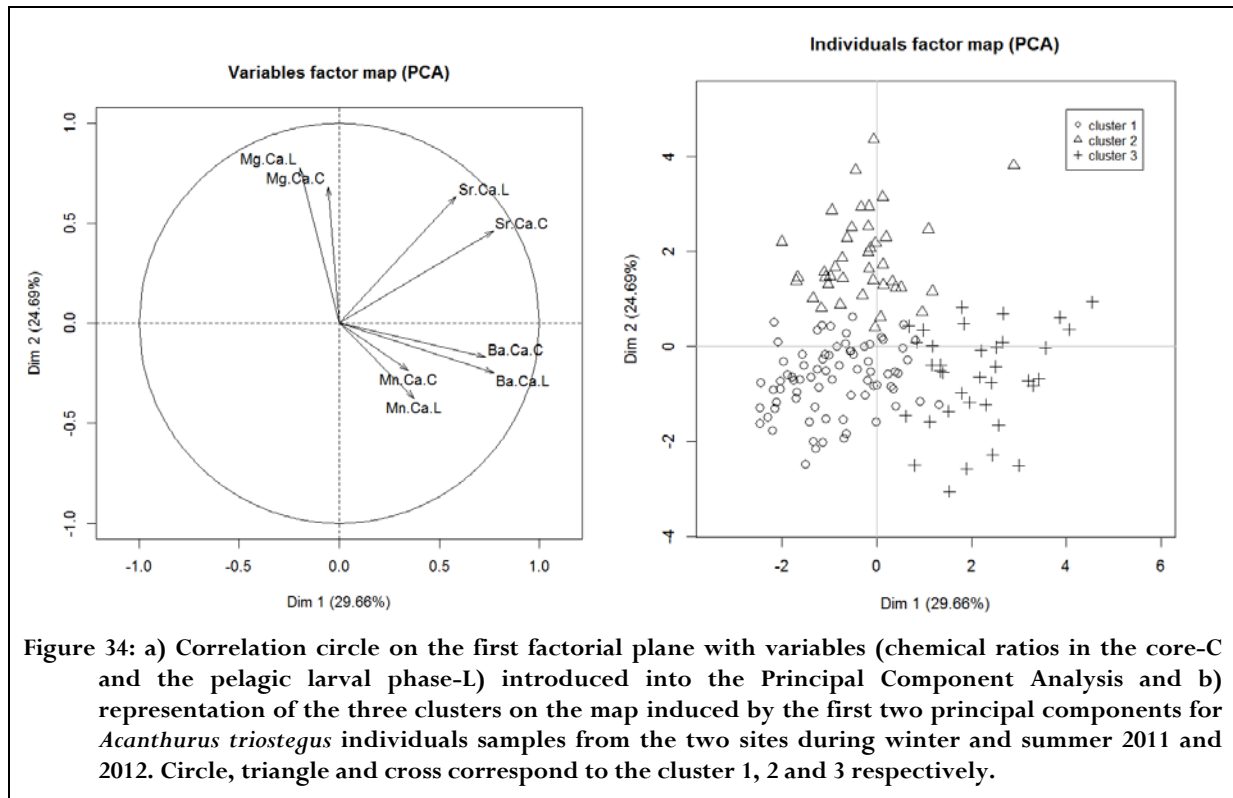
						<i>Acanthurus triostegus</i>			<i>Plectroglyphidodon imparipennis</i>			
						PLD	Length	Weight	PLD	Length	Weight	
Dry	2011	SG	/	Dry	2011	SPb	NS	NS	NS	*	NS	NS
Dry	2011	SG	/	Dry	2012	SG	NS	NS	NS	*	NS	NS
Dry	2011	SG	/	Rainy	2011	SG	*	*	*	*	*	NS
Dry	2011	SPb	/	Dry	2012	SPb	NS	NS	NS	*	*	*
Dry	2011	SPb	/	Rainy	2011	SPb	*	NS	*	*	*	*
Dry	2012	SG	/	Dry	2012	SPb	NS	NS	NS	*	*	*
Dry	2012	SG	/	Rainy	2012	SG	NS	*	NS	*	NS	NS
Dry	2012	SPb	/	Rainy	2012	SPb	NS	*	*	*	*	*
Rainy	2011	SG	/	Rainy	2011	SPb	NS	NS	*	*	*	NS
Rainy	2011	SG	/	Rainy	2012	SG	NS	NS	NS	*	*	*
Rainy	2011	SPb	/	Rainy	2012	SPb	NS	*	NS	*	*	*
Rainy	2011	SG	/	Rainy	2012	SPb	NS	NS	NS	*	NS	NS

There are very few differences between sites but several differences between seasons and between years (Table 7). The parameters for *P. imparipennis* larvae were: PLD  $31 \pm 4$  days, standard length  $14.6 \pm 0.5$  mm and mean weight  $160 \pm 17$  mg. No significant differences were found between sites, seasons and years with PLD. Nevertheless temporal variations were found for weight (sites, seasons, years), and more specifically between the two sites in the dry season in 2012 and the rainy season in 2011. For standard length, significant differences over time (season, year) were found in Saint-Paul's bay but very few at Saint-Gilles (Table 7).

Thus for both species, the most significant differences concern the temporal variations (54% and 29% for seasons and years respectively) mainly observed at the Saint-Paul's sampling site (65% of variance) and in the rainy season.

### 3.2 Hierarchical clustering analysis on core and PLP mean chemical ratios

The first two components of the PCA explain 54% and 51% of the total variance in the dataset respectively for *At* and *Pi* (Figure 34 and Figure 35). Core and pelagic larval mean signatures were generally highly correlated for each chemical ratio (Figure 34a and Figure 35a). Hierarchical clustering analysis was used to group *At* and *Pi* individuals with similar natal origin and dispersal history. Intra-cluster inertia of the clustering-tree indicated that three was the optimal number of clusters (Figure 34b and Figure 35b) that best explains both the *At* and *Pi* sampling databases.

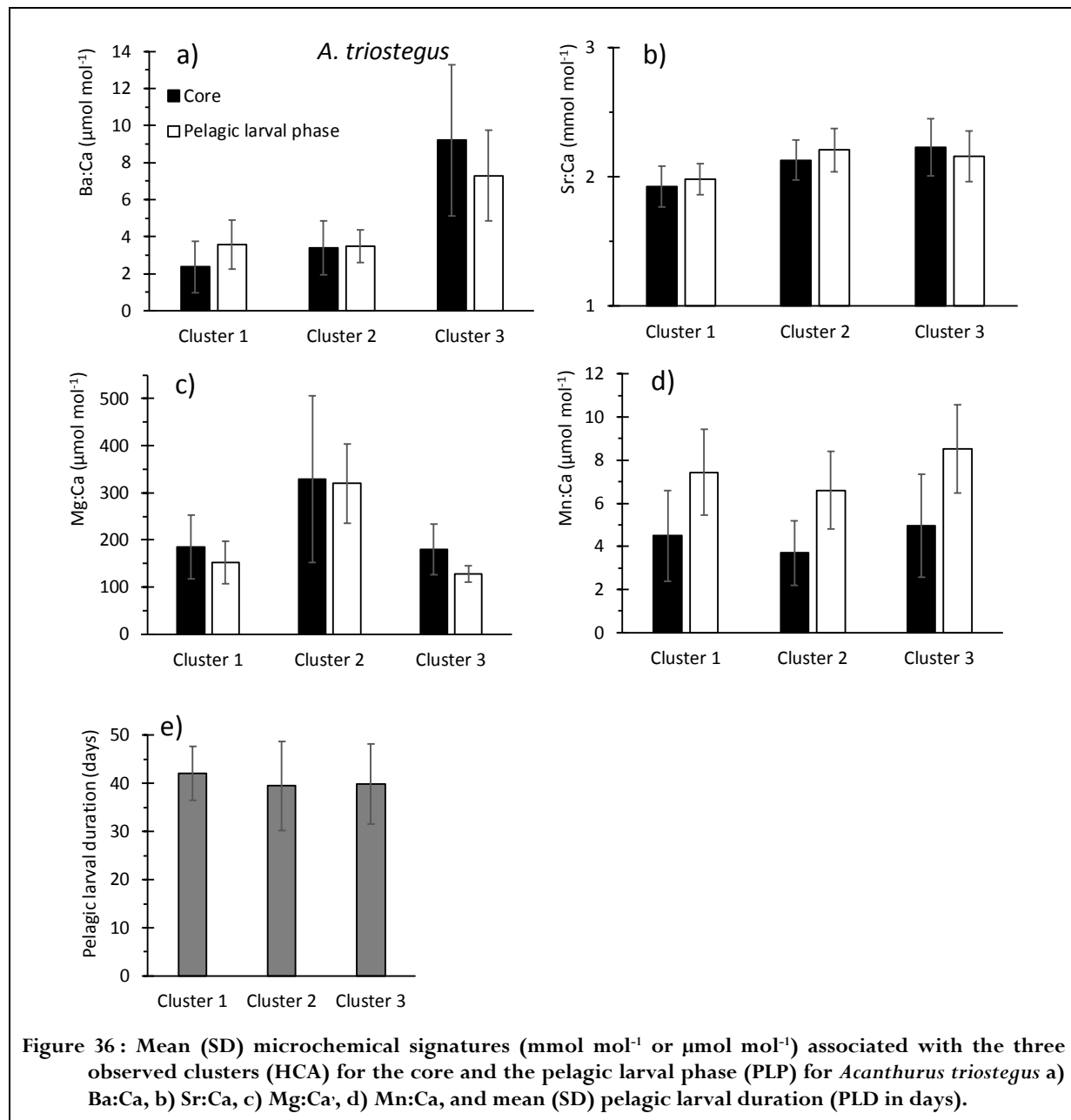




For *At* species, cluster 1 contained the largest number of individuals (49%), followed by cluster 2 (27%) and cluster 3 (24%). Cluster 1 presented *At* individuals characterized by depleted in Ba:Ca, Sr:Ca and Mg:Ca ratios, both for the core and the PLP (Figure 36, Table 8) compared to the overall mean. Furthermore, cluster 1 was mainly represented by *At* individuals recruited during the year 2011, 85% of larvae collected in 2011 compared to only 13% of those caught in 2012 (Table 10a). Cluster 2 exhibits higher Mg:Ca and Sr:Ca ratios for the core and PLP compared to cluster 1, yet with depleted Ba:Ca as for cluster 1. Interestingly, 85% of *At* individuals belonging to cluster 2 were found in winter 2012 (Table 8 and Table 10a). Finally, *At* individuals attributed to cluster 3 mainly differed from the other clusters in their substantial enrichment in otolith Ba:Ca both for the core and the PLP, as well as a slightly lower Mg:Ca ratio (Figure 36, Table 8). However, 86% of *At* larvae assigned to cluster 3 were collected during the summer 2012-2013 (Figure 36, Table 8). No significant differences were found in the PLD of *At* between the three clusters (Figure 36).

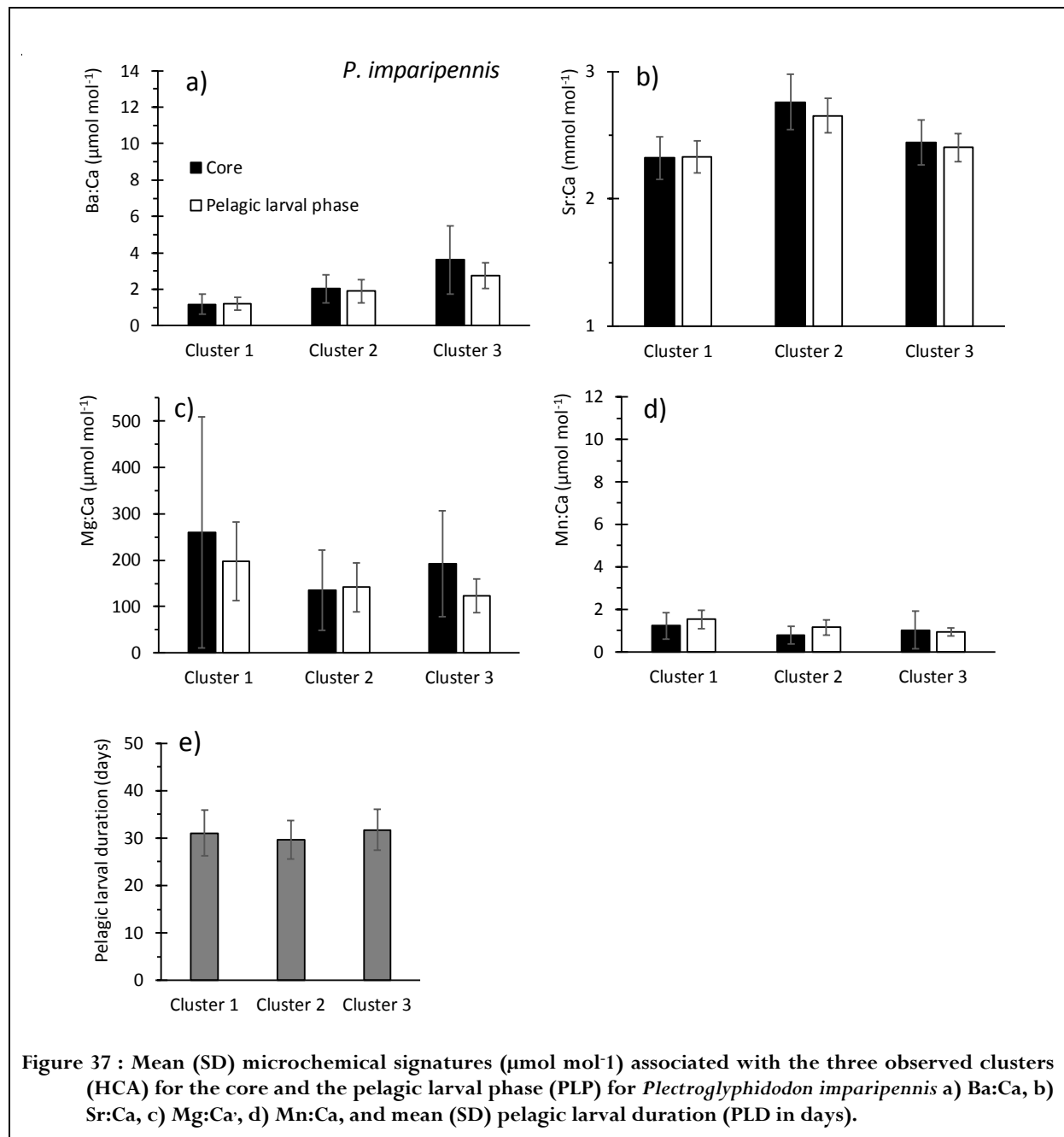
**Table 8: p value and v.test for the three Hierarchical Cluster Analyse (HCA) of *Acanthurus triostegus* (*At*) for continuous variables, chemical ratios for the core (C) and the PLP (L), as well as categorical ones, year and season.**

At	Category	Cluster 1		Cluster 2		Cluster 3	
		p-value	v.test	p-value	v.test	p-value	v.test
<b>Categorical variables</b>	<b>year 2011</b>	2.7e-20	9.23	1.1e-07	-5.3	3.2e-07	-5.1
	<b>year 2012</b>	2.7e-20	-9.23	1.1e-07	5.3	3.2e-07	5.1
	<b>winter</b>			8.2e-11	6.5	2.9e-08	-5.6
	<b>summer</b>			8.2e-11	-6.5	2.9e-08	5.6
<b>Continuous variables</b>	<b>Ba:Ca C</b>	1.8e-10	-6.4			1.3e-20	9.3
	<b>Ba:Ca L</b>	2.7e-06	-4.7	1.6e-03	-3.2	1.6e-18	8.8
	<b>Sr:Ca C</b>	1.4e-12	-7.1	9.6e-03	2.6	1.7e-08	5.6
	<b>Sr:Ca L</b>	1.5e-10	-6.7	7.8e-07	4.9	5.1e-03	2.8
	<b>Mg:Ca C</b>	2.5e-04	-3.7	1.3e-10	6.4	1.8e-02	-2.4
	<b>Mg:Ca L</b>	9.5e-07	-4.9	1.7e-23	10	4.3e-06	-4.6
	<b>Mn:Ca C</b>			1.3e-02	-2.5		
	<b>Mn:Ca L</b>			2.1e-03	-3.1	4e-04	3.5



For the *Pi* species, clusters 1 and 3 contained approximately similar numbers of individuals (38% and 40%, respectively), followed by cluster 2 (22 %). *Pi* individuals belonging to cluster 1 displayed primarily lower Ba:Ca and Sr:Ca ratios but higher Mg:Ca and Mn:Ca ratios compared to the overall mean for both core and PLP (Figure 37, Table 9). 95% of individuals belonging to cluster 1 were caught during the year 2011. Cluster 2 presented *Pi* individuals mainly characterized by a high Sr:Ca ratio, most of them (58%) were collected during the winter 2012. Regarding *Pi* larvae attributed to cluster 3, they mainly differed from the two other clusters by an enrichment in Ba:Ca ratio for the core and the PLP as for *At*. Additionally, the Sr:Ca ratio was similar to cluster 1 and the Mg:Ca ratio similar to cluster 2 (Figure 37, Table 9). 96% of *Pi* individuals assigned to cluster 3 derived from larvae collected in summer 2012-2013. Otherwise, there is a clear tendency towards higher Mg:Ca and Mn:Ca ratios and lower

Sr:Ca and Ba:Ca ratios for *Pi* larvae collected in 2011 compared to 2012. As for *At* larvae, no significant differences were found in the PLD of *Pi* larvae between the three clusters (Figure 37).



Interestingly, the incorporation rate of elements appeared to be specie's specific (Figure 36 and Figure 37). Taking into account individuals with low and invariable Ba:Ca along the whole PLP (see later discussion), the *At* species incorporated >2, >4 and 1-2 times more barium, manganese and magnesium (respectively), than the *Pi* specie. On the contrary, strontium was slightly depleted (0.8) in *At* compared to *Pi*.

**Table 9 : p value and v.test of the three Hierarchical Cluster Analysis (HCA) of *Plectroglyphidodon imparipennis* (Pi) for continuous variables, chemical ratios for the core (C) and the PLP (L), as well as categorical ones, year and season.**

Pi	Category	Cluster 1		Cluster 2		Cluster 3	
		p-value	v.test	p-value	v.test	p-value	v.test
<b>Categorical variables</b>	<b>year 2011</b>	2.9e-32	11.8	7.8e-03	-2.7	8.6e-22	-9.6
	<b>year 2012</b>	2.9e-32	-11.8	7.8e-03	2.7	8.6e-22	9.6
	<b>winter</b>	3.7e-03	2.9	2e-06	4.8	1.5e-14	-7.7
	<b>summer</b>	3.7e-03	-2.9	2e-06	-4.8	1.5e-14	7.7
<b>Continuous variables</b>	<b>Ba:Ca C</b>	1e-12	-7.1			4.5e-16	8.1
	<b>Ba:Ca L</b>	1.9e-18	-8.8			3.1e-20	9.2
	<b>Sr:Ca C</b>	9.2e-10	-6.1	5.6e-17	8.4		
	<b>Sr:Ca L</b>	2.4e-09	-6	4.3e-19	8.9		
	<b>Mg:Ca C</b>	1.1e-02	2.4	8e-03	-2.7		
	<b>Mg:Ca L</b>	8.1e-10	6.1			9.8e-07	-4.9
	<b>Mn:Ca C</b>	8.9e-03	2.6	9.5e-03	-2.6		
	<b>Mn:Ca L</b>	1.1e-14	7.7			1.3e-11	-6.8

### 3.3 Dispersal variable trajectories according to Ba:Ca profiles.

Most of chemical ratios (Sr:Ca, Mg:Ca and Mn:Ca) show no significant differences in the profile shape during the larval life for both species (not shown). For all individuals, Mg:Ca and Mn:Ca underwent opposite variations occurring in both species over time: Mn:Ca gradually increased during the larval life while Mg:Ca decreased from birth to young stage, and Sr:Ca remains relatively invariable. On the contrary, Ba:Ca ratio stands out from other elements by a wide variety of patterns during the larval lifetime (Figure 38 and Figure 39). We assumed Ba:Ca was the only ratio able to reconstruct hindcasted variation during dispersal in the pelagic environment and thus qualitatively sorted *At* and *Pi* larvae into five categories (I, II, III, IV and V) according to the shape of the Ba:Ca profiles. Types I, II and III were similar because of their low Ba:Ca core ratios but differed in their variations during the pelagic period of development (Figure 38 and Figure 39). Type I displayed low and invariable Ba:Ca ratios through the entire larval life (core + PLP). In type II, Ba:Ca ratio peaked sharply in the second half of the PLP, while in type III it moderately increased in the early PLP and oscillated across much of the larval period of development. Compared to the first three categories, types IV and V displayed high Ba:Ca ratios at the beginning of larval life (core and first half of the PLP). They essentially differed from one another by their Ba:Ca variations toward the end of the PLP. Category IV exhibited low Ba:Ca ratios in the second half of the PLP up to the catch, while Ba:Ca decreased to baseline value, then peaked again and finally regained baseline values at the otolith edge in type V (Figure 38 and Figure 39). Although the five types of profiles were found for the *At* species, only four categories (I, II, IV and V) were encountered for the *Pi* species.

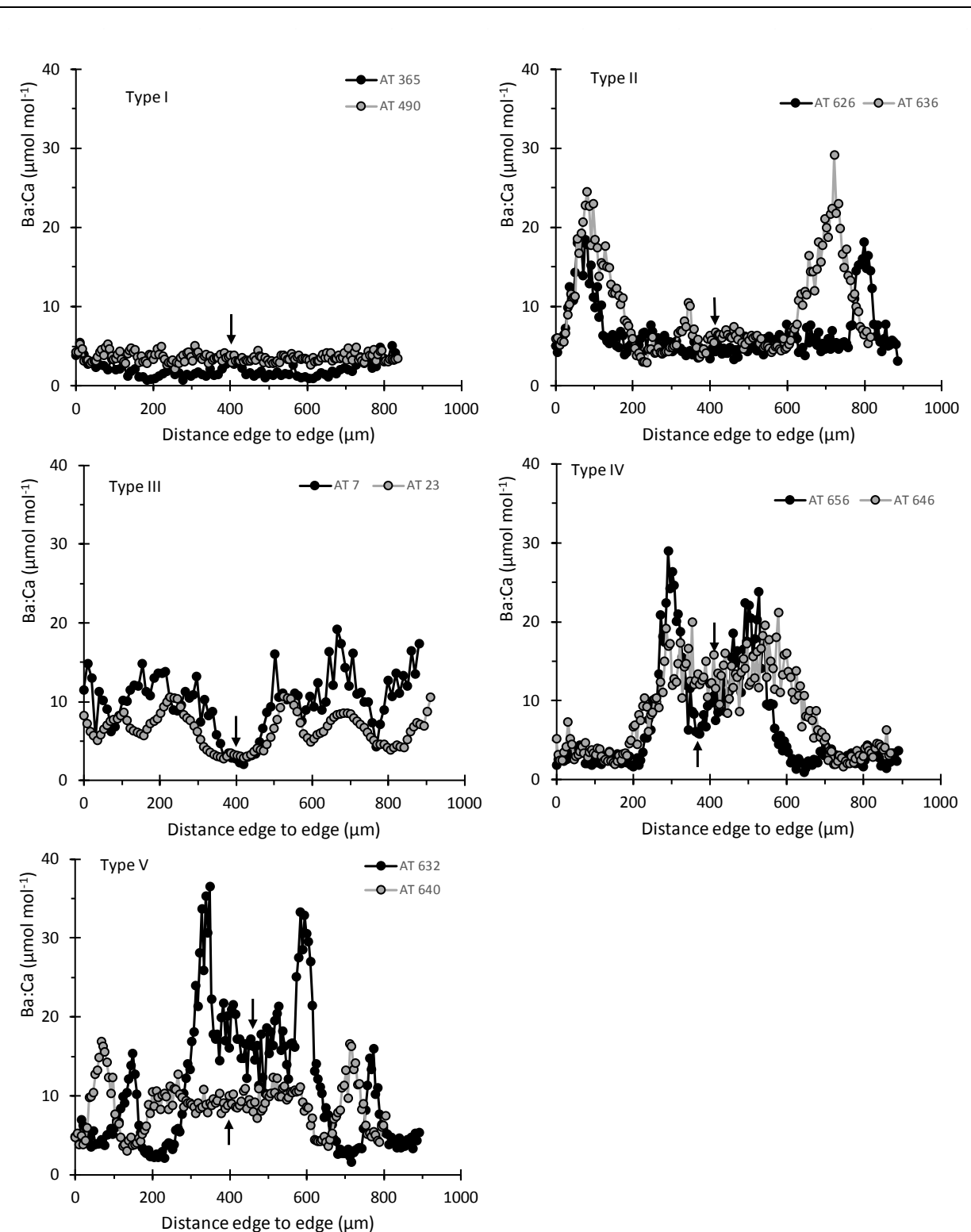
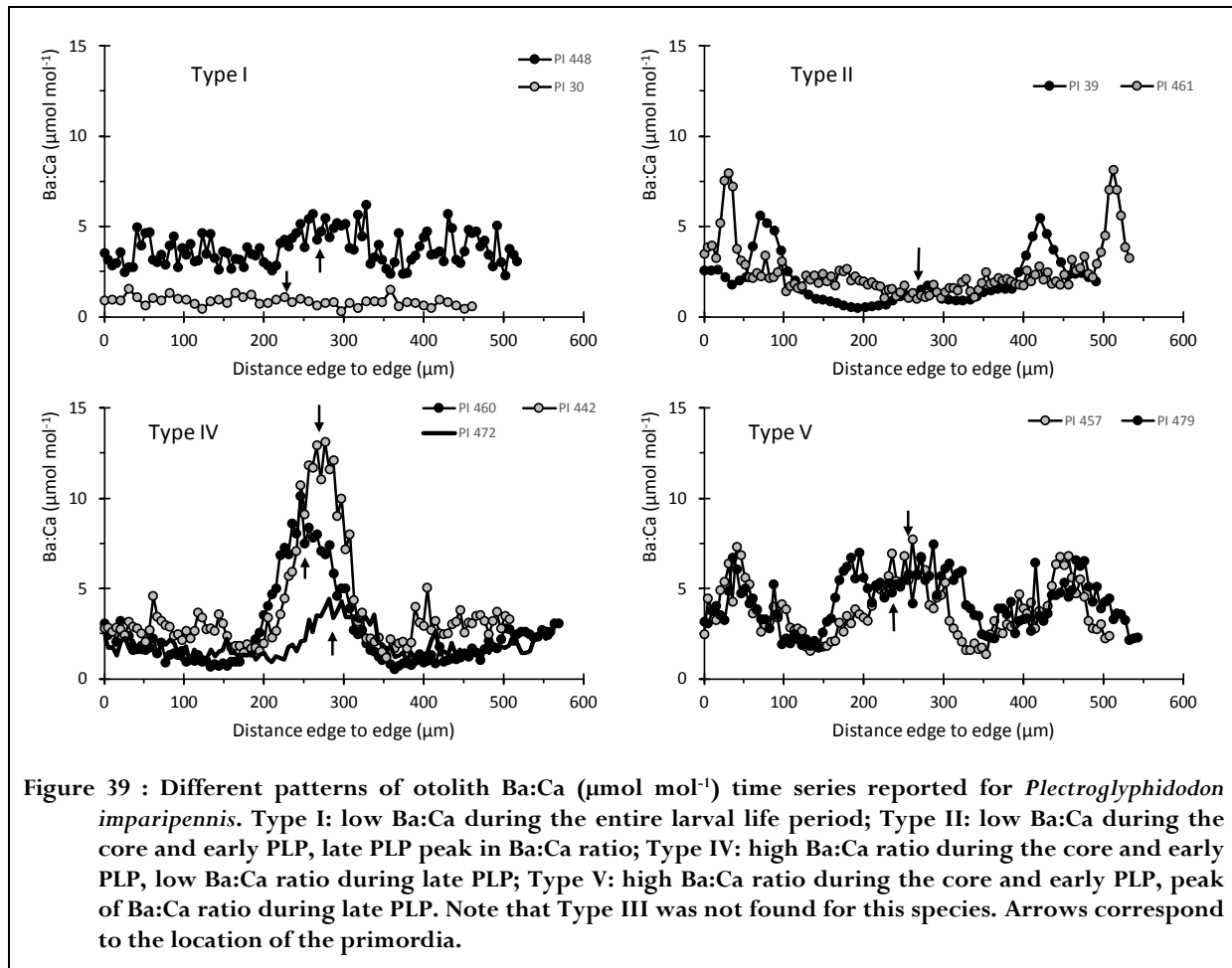


Figure 38 : Different patterns of otolith Ba:Ca (μmol mol<sup>-1</sup>) time series reported for *Acanthurus triostegus*. Type I: low Ba:Ca during the entire larval life period; Type II: low Ba:Ca during the core and early PLP, late PLP peak in Ba:Ca ratio; Type III: low core Ba:Ca ratio, moderate and varying Ba:Ca ratio during the PLP; Type IV: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, low Ba:Ca ratio during late PLP; Type V: high Ba:Ca ratio during the core and early PLP, peak of Ba:Ca ratio during late PLP. Arrows correspond to the location of the primordia.



### 3.4 Variability in the contribution of clusters and Ba:Ca profiles for seasons and years.

For the two species, the contribution of the three clusters was clearly related to seasons and years. Larvae assigned to cluster 1 were mainly found during the winter and summer 2011 (81% and 89% respectively for *At*, 89% and 83% respectively for *Pi*), while those grouped in clusters 2 and 3 were respectively observed during the winter 2012 (90% for *At* and 92% for *Pi*) and the summer 2012-2013 (84% for *At* and 86% for *Pi*) (Table 10).

**Table 10 : Percentage of individuals assigned to the three Hierarchical Cluster Analysis (HCA) and Ba:Ca time series categories for to the four sampling periods (winter 2011 and 2012, summer 2011/2012 and 2012/2013). a) *Acanthurus triostegus*, b) *Plectroglyphidodon imparipennis*.**

a) <i>Acanthurus triostegus</i>											
season	year	n	Cluster 1			Cluster 2			Cluster 3		
			I	II	IV/V	I	II	IV/V	I	II/III	IV/V
Winter	2011	37	65	11	5	5	0	3	0	11 (8/3)	0
Winter	2012	38	10	0	0	79	3	8 (5/3)	0	0	0
Summer	2011/2012	38	84	5	0	8	0	0	0	3	0
Summer	2012/2013	37	13	0	3	0	0	0	0	41 (6/35)	43 (32/11)

b) <i>Plectroglyphidodon imparipennis</i>											
season	year	n	Cluster 1			Cluster 2			Cluster 3		
			I	II	IV/V	I	II	IV/V	I	II	IV/V
Winter	2011	36	83	6	0	8	0	3	0	0	0
Winter	2012	24	0	0	0	71	8	13 (9/4)	4	4	0
Summer	2011/2012	37	57	10	16 (13/3)	11	3	0	3	0	0
Summer	2012/2013	75	3	0	1	3	3	4	17	15	54 (25/29)

values in parenthesis refer to the contribution in % of type II and III or IV and V

Overall, the contribution of Ba:Ca categories also followed seasonal and yearly trends. Although Ba:Ca type I was highly represented in cluster 1 (year 2011, 65% to 84% for *At* and 57% to 83% for *Pi*) and cluster 2 (winter 2012, 79% for *At* and 71% for *Pi*), it was absent in cluster 3 for *At* but not for *Pi* (3% to 17%). For this latter species, flat profiles (type I) attributed to cluster 3 displayed higher levels of Ba:Ca compared to those classified in clusters 1 and 2 (Figure 38). Regarding the four other categories (II, III, IV and V), they were predominantly represented in cluster 3 during the summer 2012-2013 (*At*, 84%; *Pi*, 69%). Type II profiles were marginally represented whatever the species, season and year (<6%), except during the winter 2011 (*At*, 19%), the summer 2011-2012 (*Pi*, 13%) and the summer 2012-2013 (*Pi*, 18%). Type III profiles were only found for some *At* individuals classified in cluster 3 with a significant appearance during the summer 2012-2013 (35%). Finally, profiles of types IV and V were essentially encountered during the summer 2012-2013 for larvae of the two species assigned to cluster 3 (*At*, 43%; *Pi*, 54%).

#### 4. Discussion

Understanding larval sources and dispersal history is critical for understanding reef fish populations dynamics and gene flow (Cowen & Sponaugle 2009; Shima & Swearer 2010). Multi-elemental signatures in the core and edge portions of otoliths have been used on reef fish species to infer geographical origins and larval dispersal (Patterson et al. 1999; Chittaro et al. 2004; Patterson et al.

2004b; Patterson et al. 2004c; Bergenius et al. 2005b; Patterson et al. 2005; Patterson & Swearer 2007; Hamilton & Warner 2009; Kingsford et al. 2009). However, application to the understanding of connectivity patterns met with variable success because of the variability in fingerprints at both intra- and inter-annual scales (Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Kingsford *et al.* 2009; Cook 2011). Moreover, temporal variability in chemical signatures can significantly bias the attribution of origins especially in the case of missing origin baseline signatures.

We combined two approaches to investigate the seasonal (winter/summer) and inter-annual (2011-2012) variability in the recruitment of the two reef species *Acanthurus triostegus* (*At*) and *Plectroglyphidodon imparipennis* (*Pi*) at two relatively close locations (Saint-Gilles, Saint-Paul's bay) in the north western part of the Reunion Island fringing reef. While the first examined the general trend in seasonal and inter-year variability using conventional clustering analysis on the basis of mean otolith fingerprints of core and pelagic larval stages, the second investigated at a fine scale, dispersal variations based on differences in the relative shape of Ba:Ca time series. No significant differences were found between the sampling sites for otolith fingerprints, larvae morphometric characteristics or pelagic larval durations. These results supported the same larval flow at both locations, in agreement with other observations suggesting that Saint-Paul's bay would be a transit area for recruiting larvae because of its particular oceanic circulation (Pothin 2005). For this reason, sampling sites were not compared in the following discussion anymore.

#### 4.1. General trend in larval clusters within and between years

Clustering analysis of otolith chemistry allowed the identification of three discrete sources and larval dispersal history clusters for each species. At least two clusters were represented during each season and year, suggesting that the north western reef of Reunion Island probably sheltered *At* and *Pi* larvae with various geochemical fingerprints during all seasons and years. Nevertheless, the contribution of each fingerprint appeared to be very variable depending on the seasons and years.

##### *Seasonal and year variability in the contribution of clusters*

Larvae assigned to cluster 1 were widely found during the year 2011 (81% in winter and 89% in summer for *At*; 89% in winter and 83% in summer for *Pi*). However, the contribution of larvae classified in cluster 2 was only significant in winter 2012 (90% for *At*; 92% for *Pi*), while larvae



attributed to cluster 3 were mainly observed in summer 2012-2013 (84% for *At*; 86% for *Pi*). Thus our results suggested a strong temporal variability in the otolith fingerprints as previously reported in several studies especially on Sr:Ca, Mg:Ca and Ba:Ca otolith ratios of estuarine and marine species as well as freshwater species (Martin & Thorrold 2005; Walther & Thorrold 2009).

*Winter variability in otolith geochemistry: Sr:Ca and Mg:Ca ratios*

Winter 2011 and 2012 were both dry although were differentiated by the otolith chemistry (high contribution to cluster 1 in 2011 and to cluster 2 in 2012) suggesting other factors played a significant role. Compared to cluster 2, otolith elemental ratios in cluster 1 were generally depleted in Sr and Mg ratios for the *At* species, but enriched in Mg and depleted in Sr for the *Pi* species. Although the Sr:Ca ratio is fairly constant in oceanic waters (Brown & Severin 2009), positive relationships have been found between otolith and water chemistry in the laboratory as well as field studies (Sturrock *et al.* 2012). Nevertheless, changes in this ratio have also been widely attributed to differences in temperature and salinity (Campana 1999; Bath *et al.* 2000; Elsdon & Gillanders 2002), as well as changes in otolith growth rates (Sadovy & Severin 1994; Martin & Thorrold 2005). Concerning the essential element Mg, enriched ratios were likewise observed in the larval stages of other marine fish (Sadovy & Severin 1994; Martin *et al.* 2004; Martin & Thorrold 2005). However, although the Mg:Ca ratio was never related to water chemistry, positive, negative and non-significant relationships were found with otolith growth (Hamer & Jenkins 2007; Sturrock *et al.* 2012). Consequently, we must be very careful in interpreting geochemical differences between clusters 1 and 2 as corresponding to differing larval sources, as they were mainly differentiated by the Mg:Ca and Sr:Ca ratios, these elements are regularly used for stock discrimination but are greatly influenced by temperature and growth rate effects (Sr) or expected to vary according to physiological conditions and metabolic rates (Mg) (Sturrock *et al.* 2012). At this stage, we cannot ascertain whether the shift in Sr and Mg elemental ratios between the two consecutive winters was related or not to different sources as we cannot separate the environmental imprint from the influence of metabolic and kinetic effects on element incorporation into otolith increments especially for marine fish (Patterson *et al.* 1999; Patterson *et al.* 2004b; Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Brown & Severin 2009; Miller 2011). This is particularly relevant as only slight differences in morphometric characteristics and PLD were observed between seasons and years for the two species. This probably suggests that conditions experienced by larvae during their dispersal from different origins were not sufficiently different to significantly influence the fitness of the larvae in the studied area. Finally, this can pose significant problems for researchers who intend to

identify natal origins for adult fish as temporal variability in physical as well as biological conditions may be confused with spatial differences (Gillanders 2002a; Walther & Thorrold 2009).

*Unusual Ba:Ca signatures during the summer 2012/2013*

In the case of the Ba:Ca ratio, significant differences were only found for the summer 2012-2013 when compared to the other periods studied. The two years studied differ only in their rainy season as the summer 2011-2012 was relatively dry while summer 2012-2013 was affected by the passage of two significant cyclones at the beginning of 2013 (Dumille 2<sup>nd</sup> – 4<sup>th</sup> January, Felleng 31<sup>st</sup> January – 3<sup>rd</sup> February 2013) accompanied by large waves, strong currents and very high rainfall. Although barium incorporation into the otolith could also be subject to effects not related to the water chemistry (salinity, temperature, diet, fish metabolism: see the review of Sturrock *et al.* (2012)), greater Ba concentrations in otolith core and PLP of larvae assigned to cluster 3 may be linked to the particular weather encountered during summer 2012-2013 with an early cyclonic period (starting in October) punctuated by the strong influence of two exceptional cyclonic events in January and February 2013. Variations found in some individuals (Figure 38 and Figure 39) are too significant to be only related to changes in the mineral/protein ratio, growth rate, temperature and ontogenic shifts in physiology. Consequently, as in several previous studies (Hamer *et al.* 2006; Clarke *et al.* 2007b; Hamer & Jenkins 2007), we assumed that this ratio has considerable potential to explore what fish actually experience during their pelagic dispersal around Reunion Island. This hypothesis is reinforced by our preliminary results (Riou *et al.* 2015) which showed that the otolith Ba:Ca ratio of *Epinephelus merra* was useful in identifying two groups of larvae that were born and dispersed in geochemically different environments. In this latter work, the authors were not able to ascertain whether otolith Ba:Ca differences were related to various sources and dispersal routes, or to different cohorts from a unique geographical source which had experienced different environmental conditions at different times during the spawning season. Heavy rainfall from tropical storms could have enhanced terrestrial inputs via Ba desorption from particles, groundwater discharge (Shaw *et al.* 1998; Lin *et al.* 2010) or ion exchange in the mixing zone of coastal aquifers between fresh and saline waters (Gonneea *et al.* 2013), leading to the formation of a heterogeneous Ba-enriched plume in the coastal areas. Varying Ba:Ca ratios along plume gradients would account at least partially for the great variability found in Ba:Ca ratios between individuals (see supplementary data). Furthermore, associated winds had potentially transported larvae far from their sources with more complex trajectories under such exceptional climatic events. This will be discussed in the following part of the discussion.

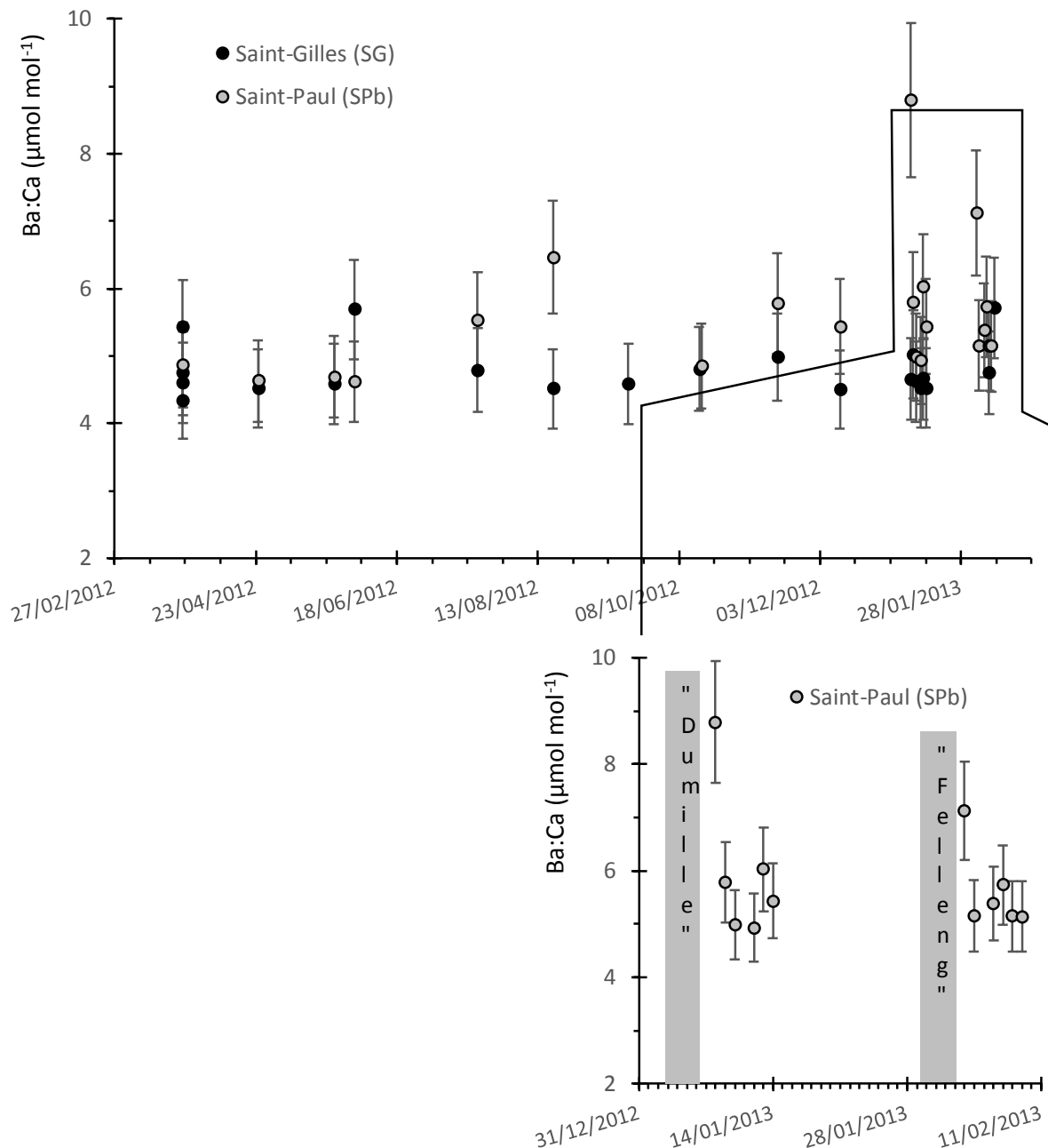
#### 4.2. Variables sources and dispersal trajectories demonstrated by Ba:Ca profiles

Because conventional cluster analysis was based on mean geochemical signatures (core and PLP), this approach is not able to give detailed dispersal trajectories. On the contrary, otolith geochemical profiles may *a priori* provide relative information on marine larval transport pathways, especially whether individual larvae experienced environments with shared characteristics (chemistry), as well as whether they passed through various geochemically differentiated water masses over time. To date, only very few studies have focused on geochemical profiles to infer detailed information about origin and dispersal variability within restricted areas that are characterised by distinctive environmental conditions (Shima & Swearer 2009a; Shima & Swearer 2015). The scarcity of studies that have used continuous geochemical profiles from otoliths is due to the difficulty in mapping or hindcasting specific water masses crossed by the larvae during their life time (Ben-Tzvi *et al.* 2008), as well as the variability over time and our inability to easily separate the environmental imprint from the influence of metabolic and kinetic effects on element incorporation into otolith increments for many elements (Patterson *et al.* 1999; Patterson *et al.* 2004b; Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Brown & Severin 2009; Miller 2011). For this to be the case, elements of interest have to be preferentially deposited into otolith increments in proportion to the physicochemical properties of the environment while limiting the confusion effect of ontogenic and physiologic processes. Spatial heterogeneity of these elements must exist in the studied environment and must be stable over a sufficiently long period of time, so that larvae using different routes record distinct signatures over time whatever their origins. Among the elements trapped in the otolith lattice, Ba is probably the one that best meets these assumptions because, first Ba was found to be mainly incorporated in otoliths according to the water composition (Bath *et al.* 2000; Elsdon & Gillanders 2005; Dorval *et al.* 2007; Walther & Thorrold 2009), and secondly Ba would be expected to vary in coastal and open waters in response to terrestrial input (dissolved and sediment loads, groundwater), oceanographic features (upwelling) or biological processes (local phytoplankton blooms) (Lea *et al.* 1989; Patterson *et al.* 1999; Alibert *et al.* 2003; Patterson *et al.* 2004b; Sinclair & McCulloch 2004; Montaggioni *et al.* 2006; Prouty *et al.* 2010).

##### *Seasonal variability in Ba:Ca multiple sources and dispersal pathways*

Using geochemical time series, Shima and Swearer (2015) recently demonstrated that reef recruiting larvae may result from multiple incoming trajectories. Using genetic parentage analysis Berumen *et al.* (2012) highlighted that connectivity would be variable among species and over time. Our results are in good agreement with these studies as multiple geochemically (Ba) distinct cohorts

replenished the two sites with variable contributions according to seasons and years (Table 10). Ba:Ca ratio allowed the identification of two putative sources of larvae as well as four (*Pi*) and five (*At*) different dispersal trajectories. Our data underlined the influence of the summer 2012-2013 (possibly due to the influence of tropical storms) on the enhancement of infrequent cohorts, especially those Ba-enriched during their birth and/or transit in the pelagic environment (Table 10; Figure 40). Indeed, in relatively dry conditions (year 2011 and winter 2012) a low and invariable Ba:Ca cohort (category I) largely dominated the recruitment (71% to 92%) whichever the species. Moreover, 92% to 100% of *At* and 84% to 97% of *Pi* larvae have embryonic development (core) with low Ba:Ca suggesting their mothers were maturing in a depleted-Ba:Ca environment. Low and constant otolith Ba:Ca ratios were in agreement with the typically low and invariable seawater Ba:Ca ratios we recorded over one year at both sampling sites ( $4.8 \pm 0.4$  and  $5.3 \pm 0.5 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , respectively for SG and SPb).



**Figure 40: Variability in the Ba:Ca water chemistry at the two sampling sites over one year, including summer 2012/2013. Graph below represents a focus on summer 2012/2013 under the influence of cyclonic events.**

However during more humid and windy conditions (summer 2012-2013), recruiting larvae derived from multiple trajectories as shown by the four geochemically distinct Ba:Ca shapes (categories II, III, IV and V, Figure 40) which account for 77% to 87 % of *Pi* and *At* respectively. These cohorts were born in low Ba (II and III) or Ba-enriched (IV and V) water bodies, each of them crossing water masses enhanced in Ba at different times during their pelagic dispersal (early PLP for III, IV and V; late

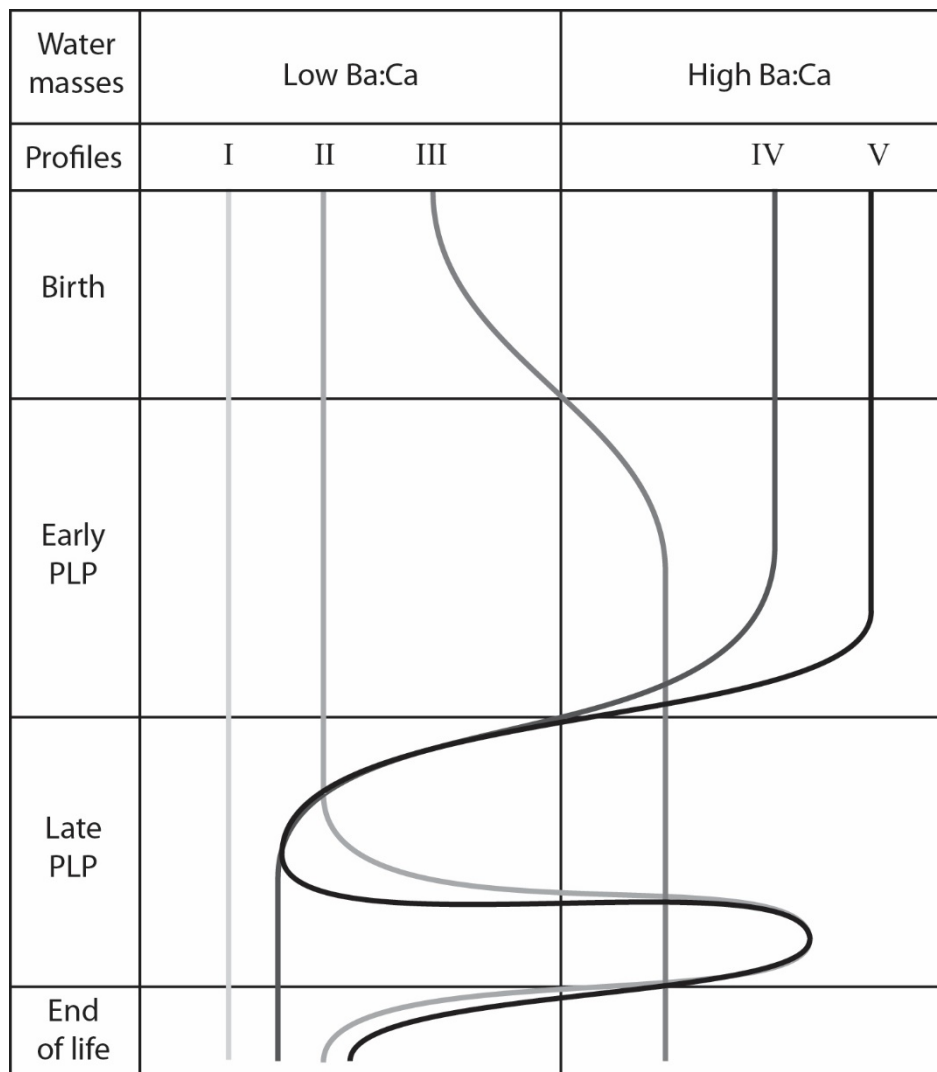
PLP for II, III and V). Compared to dry periods, more larvae from the two species have embryonic development with high Ba:Ca ratio, 43% of *At* and 54 % of *Pi*. For these individuals, mother maturation would be expected to occur in Ba:Ca enriched plumes. Interestingly, larvae from category V exhibited several passages in Ba-enriched water masses (birth, early and late PLP), while those of category III remained in moderately Ba-rich water bodies their entire larval pelagic stage. Some individuals might be travelling together (same geochemical signatures) during the first part (I and II; IV and V), but surprisingly diverged in the late PLP (Figure 40). Three categories (II, IV and V) converged in their environmental signatures of low Ba:Ca ratios (typical of sampling sites) earlier or closer to the end of their profiles, while the latter category (III) did not. As previously mentioned (Warner et al., 2000; Shima and Swearer, 2015), early convergence would suggest that groups of individuals might be travelling together, or that they may accumulate in the vicinity of recruitment sites prior to settlement. Inversely, some others (II and V) converged just before they were caught as was also found for some subsets of cohorts of common triplefin (Shima & Swearer 2015). Cohorts of categories II and V geochemically converged late (Figure 40) suggesting they left Ba-enriched water only a few days before they were recruited. Finally, cohorts of category III did not converge to low Ba:Ca values suggesting they did not reach the sampling sites in time to ensure that new geochemical characteristics were recorded in the otoliths. It is possible however that various geographical areas enriched in Ba could be responsible for the reported multiple Ba patterns, with complex convergence and divergence in the geochemical Ba signal.

*Possible mechanisms of high Ba:Ca fingerprints and consequence on larval history*

High Ba:Ca ratio spikes have previously been found in specific otolith portions of several marine fish, some of them being related to two major origins of Ba. For instance, Clarke *et al.* (2007a) found significant Ba:Ca peaks in some portions of Eulachon (*Thaleichthys pacificus*) otoliths corresponding to their summer oceanic residence in a marine area subject to upwelling events. Patterson *et al.* (2004a) and Patterson *et al.* (2005) observed strong otoliths Ba:Ca ratios during early life of the Spiny chromis (*Acanthochromis polyacanthus*) and Neon damselfish (*Pomacentrus coelestis*) in reefs also under the influence of upwelling pulses. On the contrary, Hamer *et al.* (2006) observed Ba:Ca otolith peaks in Silver seabream (*Pagrus auratus*) collected in Port Philip Bay (Australia) under the influence of terrestrial input, while Berumen *et al.* (2010) observed high Ba:Ca values in a few individuals of the reef-fish Orange clownfish (*Amphiprion percula*) during their early larval stages, but the Ba origin was unknown. Our previous study (Riou *et al.* 2015) indicated that some *Epinephelus merra* larvae also crossed Ba-enriched

water masses during dry weather conditions but preferentially during their early PLP, all of them converging to low Ba:Ca areas about ten days before recruiting. For this species individuals with high Ba:Ca ratios otolith mainly replenished the most southern fringing reefs of Reunion Island (Riou *et al.* 2015). Results of the present study are in good agreement with a major contribution of larvae with Ba-depleted otoliths to the north western reef area during dry weather conditions. The unusually large arrival of *At* and *Pi* larvae with Ba-enriched otoliths during the summer 2012-2013 suggest that specific conditions occurred during this season, either due to Ba intake in the coastal zone and/or to drastic changes in dispersal currents.

We do not know at this time whether cyclonic events promoted the input of a Ba-rich water body at a specific place or contributed to the dispersal of larvae further from their sources. Surface water was sampled over six consecutive days following both cyclonic events from the plume of the Galet River that flows into Saint-Paul's bay (Dumille and Felleng). Although Ba levels were found to be twice those of conventional seawater just after the cyclonic events, after only two days typical seawater Ba:Ca ratios in the bay were back to normal (Figure 41). A more prolonged period of high Ba levels would be needed to account for the observed Ba:Ca otolith peaks of both species. Groundwater discharge or ion exchange in the mixing zone of coastal aquifers would thus be involved to explain the prolonged presence of Ba-rich water bodies along the coasts of Reunion Island. Submarine groundwater discharge from shallow aquifers occurs frequently along the Reunion Island shoreline and within the back reef zones (Cuet *et al.* 1988; Naim *et al.* 2000; Tedetti *et al.* 2011) and its Ba composition is more than twice that of conventional seawater during a summer period similar to 2011-2012 (Riou, unpublished data).



**Figure 41:** Schematic representation of the five different patterns of otolith Ba:Ca ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) time series reported for both species, with special emphasis onto larval histories according to low and high Ba:Ca during the core and pelagic larval phase (PLP).

#### *Temporal versus spatial Ba:Ca sources*

Intense rain associated with tropical storms can lead to enhanced groundwater discharge and thus to an increase in dissolved Ba in some specific places along the coast. Eggs of *Pi* larvae are expected to stay attached to the substrate in the fringing reef zone until hatching (Breder & Rosen 1996). The *At* species have been seen along the reef front at the time of gamete emission, in order to improve pelagic eggs dispersion (Domeier & Colin 1997). *At* and *Pi* individuals with Ba-enriched core and an early PLP portion (categories IV and V) were mainly found in substantial number during the summer 2012-2013 (43 % and 54 % respectively). More widespread Ba-enriched plumes along the fringing reef and reef front would be expected during this period, although a change in the larval source from a specific area



year-round impacted by high Ba inputs could be a plausible explanation. Furthermore, prolonged enrichment of the Ba:Ca ratio throughout the early PLP could be the result of a local retention mechanism in a Ba:Ca enriched plume.

Some *At* and *Pi* larvae born in high Ba water masses during the summer 2012-2013 hatched long before the onset of cyclonic events (end December 2012 for *At*; October 2012 for *Pi*). This suggests the presence of specific Ba-enriched zones independent of storm conditions and thus, a change in the dispersal mechanism that favored efficient larval transport, which does not usually reach the north western part of the Reunion Island reef. Another possibility may be that Ba-depleted and Ba-enriched larvae display temporal variability in the geochemistry of a source and specific pathways that the larvae may traverse over time (Riou *et al.* 2015) as significant changes may occur in otolith fingerprint throughout a protracted spawning season (Cook 2011). However, taking into account the PLD and date of capture, almost simultaneous hatching of larvae with low and high Ba in their core would occur from December to mid-January for *At* and *Pi* species, as well as for 15 days in October for the *Pi* species. We thus concluded that the two larval categories cannot come from temporally different cohorts of a same source but rather from different geographical sources characterized by heterogeneous geochemical composition depending on the Ba. The variable contribution of the high Ba:Ca source we reported between dry conditions during winter (0%-8% for *At* and 3%-16% for *Pi*) and summer 2012-2013 with active storm activity (43% and 54%, respectively for *At* and *Pi*). This is in agreement with the finding of Berumen *et al.* (2012) who demonstrated significant year-differences in the larval dispersal in Kimbe bay (Papua New Guinea) for two reef fish species using genetic parentage analysis. In our case, strong dispersal variability would be related to changes in weather conditions highlighting the prominent role of climatic events on the dispersal of reef fish larvae in tropical regions.

As proposed by Riou *et al.* (2015) for *E. merra*, Ba-enriched larvae of *At* and *Pi* could originate from the south-western part of the island. It has been found that fish larvae settle relatively close to their natal zone or at great distances depending on hydrodynamic features (Christie *et al.* 2010; Berumen *et al.* 2012; Harrison *et al.* 2012; Almany *et al.* 2013). Christie *et al.* (2010) were able to identify larvae that dispersed up to 180 km from their natal area as they were entrained in meso-scale eddies. Inversely, larvae can be retained close to their dispersal kernel while contributing successfully to their self-recruitment (Berumen *et al.* 2012; Harrison *et al.* 2012; Almany *et al.* 2013). We thus propose that the larvae that replenished the north-western part of Reunion fringing reefs came from nearby sources that dispersed, or were retained in relatively homogeneous and Ba-depleted water masses (similar to the study sites) during dry weather conditions, while the recruitment of larvae from unusual sources that dispersed along multiple paths were promoted during periods largely influenced by tropical storms such

as summer 2012-2013. Large meso-scale eddies that generally create a northward current along the west coast of Reunion Island, but also heterogeneous trajectories with retention in the vicinity of the island as well as offshore entrainment (Dufour *et al.* 1995; Taquet 2004), could have been enhanced during the summer 2012-2013 resulting in the efficient transport of Ba-enriched larvae from the south or other areas.

Acquiring information about the sources but also detailed dispersal histories is increasingly necessary to resolve some of the underlying mechanisms of realized connectivity that would condition the post-dispersal survival to reproductive age (Shima & Swearer 2009a; Burgess *et al.* 2012; Shima *et al.* 2015; Shima & Swearer 2015). Our results support the recent findings of other studies which reported that connectivity in marine metapopulations is based upon a mix of occasional complex dispersal and substantial natal retention (Swearer *et al.* 1999; Swearer *et al.* 2002; Jones *et al.* 2005; Almany *et al.* 2007; Shima & Swearer 2009a; Shima & Swearer 2015), the proportion of each being largely temporally variable and dependent on physical and behavioural mechanisms. While previous studies suggested occasional larval pool to be from longer distance dispersal, we found no significant differences in the PLD whatever the specie between the low otolith Ba:Ca category predominantly present during periods marginally affected by tropical storms, and the high otolith Ba:Ca category encountered largely under the influence of storm activity (summer 2012-2013). This would suggest that the multiple dispersal trajectories observed due to particular climatic conditions did not result in major changes in dispersal duration and morphometric parameters in our study area. Behavioral mechanisms have thus to be invoked as previously proposed in other studies (Thorrold *et al.* 2001; Kingsford *et al.* 2002). In addition, this would suggest that recruitment of the two species follows a biological synchronism. We found similar PLD for *At* compared to others studies in French Polynesia and Wallis Island (Lo-Yat (2002) while lower levels for *Pi* than at Hawaï (Lobel 1997). Slight differences in morphometric characteristics of larvae appear to be linked to seasons and years probably in relation with available diet. Similar dispersal pathways were found for the two species despite a different PLD, *At* ( $42 \pm 6$  days) dispersing on average for 11 days more than *Pi* ( $31 \pm 4$  days). Improved understanding of the relationship between particular climatic conditions, Ba-enriched hot spot, PLD and larval trajectories may be essential in the future to facilitate more effective management of these species around Reunion Island.

## 5. Conclusion

In summary, origins and dispersal history of *Acanthurus triostegus* and *Plectroglyphidodon imparipennis* larvae that recruit in the north western part of the Reunion Island fringing reef appeared to be temporally variable (seasons and years) and largely dependent on climatic conditions. Ba:Ca ratio was the most significant elemental ratio allowing the identification of different putative sources and dispersal trajectories during the pelagic larval phase. During dry seasons (winter) and summer weakly affected by tropical storms (2011-2012), prevailing larvae were born and dispersed in Ba-depleted water masses such as the studied sites, which may suggest recruitment occurred through self-recruitment in this area in this type of climatic condition. Inversely, larvae from multiple origins and dispersal pathways (Ba-enriched as well as Ba-depleted) colonized SG and SPb during the summer 2012-2013 which was characterized by particular climatic conditions (tropical storms). In light of the occurrence of both Ba categories before and during storm events, changes in hydrodynamic conditions must be invoked to explain the inputs of larvae of two origins and multiple dispersal trajectories, although this does not preclude an increase in the transfer of dissolved Ba from the island to some specific coastal zone areas. This assumed that in such climatic conditions a high proportion of recruiting larvae were exported from more distant sites and subjected to terrestrial Ba contributions. Additionally, behavioral mechanisms may be involved to explain why PLD were not significantly different for both species between classic situations (dry and wet not affected by cyclonic conditions) and atypical periods (under the influence of cyclonic events).

## Acknowledgments

The authors are grateful to the GIP National Marine Reserve of Reunion Island for their help in field logistics and fish sampling. This research was funded by the European Community, the Regional Council of La Réunion (PhD fellowship of Antoine Riou) the French Institute for Research and Development and the French National Scientific Research Centre. We gratefully acknowledge the technical staff of the laboratory of bio-inorganic analytical chemistry and the environment (LCABIE - IPREM) for their technical assistance in the microchemical analysis of otoliths. We also thank Rosie Cox, a native English speaker, for providing writing assistance to ensure the clarity and fluency of the English language.

### III.3 Synthèse

Les variations de concentration Ba:Ca se retrouvent dans la composition chimique de deux autres espèces : *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis*. Comme avec *Epinephelus merra*, on retrouve dans la phase larvaire des individus avec de fort taux de Baryum et d'autres sans. Ainsi, pour des durées de vie larvaire différentes (30, 40 et 50 jours chez *P. imparipennis*, *A. triostegus* et *E. merra*), le baryum est bel et bien un marqueur des histoires de vie des poissons coralliens à La Réunion.

Cette étude complémentaire à celle du premier chapitre complète nos connaissances sur la dimension spatiale de la chimie des otolithes des poissons des récifs coralliens de La Réunion et nous apporte des éléments de réflexion sur la dimension temporelle. L'hypothèse selon laquelle la partie Nord des récifs coralliens de l'île de La Réunion est confortée par la présente majorité de poissons dont les otolithes ne présentent pas de fort taux de Ba:Ca en saison normale. En revanche, l'analyse des conditions météorologiques particulières qui ont permis la présence d'individus dont les otolithes présentent une forte concentration en Ba:Ca peut aller dans le sens de l'hypothèse que ces sources pourraient provenir des récifs coralliens plus au sud, comme notre expérience sur *E. merra* le suggère. Il n'est pas non plus impossible que des excursions au large puissent être également à l'origine de ces fortes teneurs en baryum par phénomène d'upwelling par exemple. Une saisonnalité apparaît donc fortement où l'impact des pluies cycloniques ont leur importance mais n'expliquent pas en totalité les profils chimiques chargés en baryum.

Nous savons à présent que l'étude de la microchimie par ablation laser des otolithes de poissons coralliens à La Réunion nous permet de différencier deux types d'histoire de vie : celles traversant des zones exposées à une forte dose de baryum pendant plusieurs jours et celles traversant des zones dont la teneur en baryum est similaire à la moyenne des océans. Cette différence, possible chez plusieurs espèces coralliennes aux caractéristiques écologiques variables, peut se produire à différents instants de la vie des espèces étudiées.

Notre réflexion sur le potentiel de l'analyse de la microchimie des otolithes par ablation laser pour la gestion d'espèces récifales coralliennes à La Réunion nous amène alors à nous interroger sur la nature de sources d'enrichissement en baryum et le potentiel de leur localisation afin de créer un lien entre profils chimiques d'individus et spatialisation des trajectoires, éléments nécessaires à la gestion d'un espace marin : Quelles sont les sources possibles pouvant expliquer des zones d'enrichissement en baryum ? Sont-elles susceptibles d'apparaître près des côtes de La Réunion ou au contraire, d'avoir une origine plus lointaine ?



## CHAPITRE IV PERTINENCE DU BARYUM DANS LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES

---

Nous l'avons vu dans les chapitres précédents, trois espèces coralliennes à l'écologie variée (sédentaire, benthique et démersale), peuvent toutes les trois porter au sein de leurs otolithes des teneurs en baryum, manganèse et strontium qui nous permettent de différencier des groupes d'individus à l'histoire de vie marquée par des variations chimiques différentes. L'identification de ces groupes repose principalement sur l'alternance de teneurs hautes et de teneurs basses en éléments traces mesurés à différents moments de la vie des poissons. Parmi les éléments discriminants, le baryum est de loin le plus intéressant de par son lien direct avec sa concentration dans l'environnement ambiant du poisson (Hamer *et al.* 2006; Clarke *et al.* 2007b; Hamer & Jenkins 2007). Alors qu'il est naturellement présent en faible concentration dans l'eau marine, nous avons pu mesurer des variations de concentration suffisamment importantes chez les trois espèces récifales de La Réunion pour que la mesure dépasse d'éventuels effets physiologiques. Les variations spatiales et temporelles mesurées nous poussent alors à comprendre la ou les origines de ces variations dans l'environnement afin de préciser le rôle que peut jouer l'analyse de la composition microchimiques des otolithes pour la gestion des espèces à La Réunion. Nous proposons dans la suite de notre étude d'identifier des sources possibles de ces variations chimiques.

### IV.1 A La Réunion

Les hypothèses pouvant expliquer un enrichissement des masses d'eau marine en baryum sur l'île de La Réunion sont nombreuses : upwelling, estuaires en crue, adsorption de particules chargées par les fortes pluies, percolation d'eau douce à travers le socle basaltique. Les upwellings n'ont jamais été précisément identifiés dans l'archipel des Mascareignes mais de tels phénomènes devraient exister étant donné la configuration géologique de ces îles. L'hypothèse de l'apport de baryum par les eaux douces reste pour le moment la plus plausible. C'est à travers un dispositif expérimental inédit à La Réunion que nous allons pouvoir tester cette hypothèse.

#### IV.1.1 Histoire des larves d'*Epinephelus merra* lors d'un recrutement exceptionnel dans la baie de Saint-Paul (Ile de La Reunion)

*Larval histories of the grouper *Epinephelus merra* during an exceptional mass-settlement event (Saint-Paul Bay, Reunion Island)*

**Cybium – en préparation**

**A. Riou<sup>1,2</sup>, G. Bareille<sup>3</sup>, K. Pothin<sup>2</sup>, C. Pécheyran<sup>3</sup>, P. Chabanet<sup>1</sup>**

1 UMR IRD-UR-CNRS ENTROPIE, Laboratoire d'Excellence LABEX CORAIL, Institut de Recherche pour le Développement, CS 41095, 97495 Sainte-Clotilde, Reunion Island (antoine.riou@ird.fr, pascal.chabanet@ird.fr)

2 Reserve Naturelle Marine de La Reunion, 39 rue du Lagon, Lot Dayot1, 97434 La Saline Les Bains, Reunion Island (karine.pothin@reservemarinereunion.fr)

3 LCABIE, UMR 5254 CNRS / IPREM, Helioparc Pau Pyrenees, 2 avenue du Président Angot, F-64053 PAU Cedex 9, France (gilles.bareille@univ-pau.fr)

## Résumé

Les connaissances sur la connectivité entre populations ichthyologiques sont essentielles pour adapter des mesures des gestions dans une région donnée. A La Réunion, le macabit (*Epinephelus merra*, Serranidae), espèce emblématique et d'intérêt commercial, fait l'objet d'un suivi particulier au sein de la réserve naturelle marine de La Réunion à l'aide de la composition chimique des otolithes, outil permettant de retracer les histoires de vie des individus. Alors que des travaux antérieurs ont montré que l'auto-recrutement serait majoritaire chez *E. merra*, les résultats acquis au cours de la thèse ont permis d'identifier, à l'aide de la composition chimique de ces otolithes, des structures spatiales et temporelles différentes de populations. Nous chercherons ici à savoir quels sont les facteurs qui peuvent être à l'origine de l'hétérogénéité des individus à l'intérieur d'une population donnée. Pour cela, des jeunes individus arrivés en masse à la suite d'un évènement cyclonique ont été capturés et mis en élevage dans des aquariums d'eau de mer directement prélevée dans le milieu naturel. L'analyse de leurs otolithes, avant la date de leur mise en captivité, nous a permis de mieux identifier l'origine géographique de ces juvéniles. L'incubation en aquarium a permis de montrer que leurs otolithes ont enregistré une concentration en baryum significativement plus importante que celle de l'eau de mer, provenant bien plus de l'enrichissement naturel de l'eau issue d'un captage à travers le socle basaltique que de la nourriture ingérée par le poisson. Enfin, à partir de ces résultats, nous discutons des origines de ces sources naturelles d'enrichissement en éléments chimiques afin de mieux appréhender la connectivité entre populations et la gestion des ressources halieutiques.



## 1. Introduction

La connectivité entre les différentes populations de poissons récifaux est un sujet central en écologie marine (Doherty *et al.* 1985; Cowen & Sponaugle 2009). Bien qu'une grande majorité d'espèces de poissons récifaux a une vie démersale à partir de leur stade juvénile, leur phase larvaire est associée à une phase de dispersion pélagique. Cette dernière phase peut-être la période clé pour créer des connexions entre des populations éloignées et est déterminante pour la persistance des espèces, la conservation de la biodiversité et la gestion des pêches (Roughgarden *et al.* 1988; Cowen & Sponaugle 2009). Malgré le rôle majeur de la dispersion larvaire, cette phase est relativement peu documentée (Cowen & Sponaugle 2009; Sale *et al.* 2010; Shima *et al.* 2015) en raison des grandes difficultés à suivre des larves de petites tailles pendant de nombreux jours dans le milieu océanique. Des recherches récentes ont par ailleurs démontré que la qualité des larves (i.e., fitness) pourrait être assez largement déterminée par la variabilité des conditions environnementales rencontrées au cours de leur histoire de dispersion (Shima & Swearer 2010). Il a été démontré ces dernières années que la dispersion larvaire peut être très variable dans l'espace comme dans le temps, l'autorecrutement (self-recruitment) et l'allo-recrutement pouvant contribuer chacun d'eux de façon importante mais avec une grande variabilité spatio-temporelle selon les espèces (Almany *et al.* 2007; Berumen *et al.* 2010; Christie *et al.* 2010; Berumen *et al.* 2012; Harrison *et al.* 2012; Almany *et al.* 2013).

Une méthode indirecte comme la mesure de la géochimie (contenu en éléments chimiques) des pièces calcifiées (otolithes) a la capacité de fournir des informations pertinentes sur l'origine natale et la dispersion larvaire au sein de populations multiples. Cependant, le succès de son application est très dépendant de la présence de zones de chimie contrastée dans le milieu naturel, du rôle du métabolisme et de la physiologie du poisson dans les processus d'incorporations des éléments aux otolithes (Patterson *et al.* 1999; Patterson *et al.* 2004a; Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Brown & Severin 2009; Miller 2011). Ces limitations qui s'exercent au niveau de la résolution spatiale et temporelle ont conduit à des résultats mitigés (Patterson & Kingsford 2005; Patterson *et al.* 2005; Ruttenberg *et al.* 2008; Kingsford *et al.* 2009; Cook 2011).

Des travaux récents portant sur la composition géochimique des otolithes de 3 espèces de poissons récifaux rencontrés au niveau des récifs frangeants de l'île de la Réunion, *Epinephelus merra* (Serranidae), *Acanthurus triostegus* (Acanthuridae) et *Plectroglyphidodon imparipennis* (Pomacentridae), ont souligné le fort potentiel du rapport Ba:Ca pour reconstituer l'origine natale et décrire plus précisément l'histoire de dispersion lors de la phase larvaire (Riou *et al.* 2015; Riou *et al.* submitted). Ces deux études évoquent, en effet, l'existence de deux groupes de larves différenciés par leur contenu pauvre ou

élevé en Ba:Ca. Les individus d'*E. merra* enrichis en Ba ont été rencontrés préférentiellement dans les récifs coralliens situés les plus au sud alors les individus appauvris ont été retrouvés dans les récifs situés les plus au nord, l'ensemble des récifs de La Réunion étant localisé sur la côte ouest, sud-ouest de l'île. De plus, les larves d'*A. triostegus* et de *P. imparipennis* colonisant les zones les plus nord (Saint-Gilles et Saint-Paul) étaient quant à elles appauvries en Ba:Ca en saison sèche 2011 et 2012 et en saison des pluies 2011/2012 (faible activité cyclonique), alors qu'une forte proportion de larves enrichies en Ba:Ca a atteint cette zone nord lors de la saison des pluies 2012/2013 soumise à une forte activité cyclonique.

Au regard de ces résultats, on peut se demander si des larves d'*E. merra*, enrichies en Ba:Ca atteignent elles aussi la zone récifale la plus au nord de l'île en période cyclonique. Cette question est d'autant plus pertinente qu'il a été constaté que des événements climatiques exceptionnels pouvaient générer des arrivées massives de larves d'*E. merra* le long de la côte ouest de l'île de la Réunion (Chabanet *et al.* 2004).

Une autre question importante reste en suspens à propos de la signification environnementale du Ba:Ca dans les otolithes. En effet, comme beaucoup d'autres éléments, l'incorporation du Ba dans les otolithes est soumise aux effets potentiels de différents processus, croissance somatique, régime alimentaire, ontogénie, ... (Sturrock *et al.* 2012) pouvant modifier le signal associé à des changements de milieu de vie. Pourtant, si l'on veut utiliser le rapport Ba:Ca comme indicateur d'origine et de trajectoire de dispersion, il est indispensable que les variations de celui-ci soient principalement reliées à des changements de composition des masses d'eau traversées par les larves au cours de leur vie. Cette relation a été observée sur quelques espèces sur des gradients salins plus fréquemment observés lors d'expérimentations en milieux contrôlés que dans des milieux naturels (Bath *et al.* 2000; Elsdon & Gillanders 2005; Walther & Thorrold 2006). Il a été plus largement supposé que des variations du Ba:Ca, observées dans des otolithes de poissons vivant uniquement en milieu marins, découlaient de l'existence d'une grande hétérogénéité du Ba:Ca en zone côtière, au regard des nombreux processus naturels capables d'engendrer des variations notables du rapport Ba:Ca : upwelling d'eaux océaniques profondes (Patterson *et al.* 1999; Alibert *et al.* 2003; Patterson *et al.* 2004a; Sinclair & McCulloch 2004; Montaggioni *et al.* 2006), transport de matières continentales en suspension en zone côtière avec désorption du Ba au contact de l'eau salée marine (Li & Chan 1979; Coffey *et al.* 1997), résurgences d'eau douce en milieu marin (Shaw *et al.* 1998; Colbert & McManus 2005; Lin *et al.* 2010) et échanges ioniques dans la zone de mélange eau douce/eau salée des aquifères côtiers (Gonneea *et al.* 2013).

Suite au passage de deux événements cycloniques à proximité de l'île de La Réunion en janvier 2008, un arrivage massif de larves d'*E. merra* a été en particulier observé dans la baie de Saint-Paul (SPb).

Les larves ont fait l'objet d'un échantillonnage et ont été élevées quelques semaines en aquarium dans les installations de l'ARDA (Association Réunionnaise de Développement de l'Aquaculture) dont l'eau d'alimentation présente un rapport Ba:Ca deux fois plus élevé (Riou, données non publiées) que celui de l'eau de mer prélevée au droit du récif de Saint-Gilles (SG) et de la baie de Saint-Paul (SPb) (Riou *et al.* submitted). Ce travail propose donc : (1) de déterminer l'origine des larves collectées dans la baie de Saint-Paul en prenant comme indicateur le rapport Ba:Ca dans leurs otolithes ; et (2) d'évaluer à travers une expérience en milieu contrôlé si un enrichissement naturel du milieu de vie en Ba:Ca, via l'alimentation des pompes des aquariums, est enregistré dans les otolithes des larves d'*E. merra*.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 L'espèce étudiée

Le mérou gâteau de cire (*Epinephelus merra*, Serranidae) est une espèce tropicale commune présente dans l'Indopacifique. Ce petit mérou fréquente les lagons et les pentes externes des récifs coralliens jusqu'à 50 mètres de profondeur. D'une taille moyenne de 19 cm et pouvant atteindre jusqu'à 31 cm (Lieske & Myers 2005), elle représente 43 % des prises des pêcheurs traditionnels dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion entre 2008 et 2011 (Fleury *et al.* 2012), pour une consommation familiale et ou une commercialisation à un prix élevé, autour de 20 euros par kilo (Sumaila *et al.* 2007). Son abondance, sa place de prédateur dans la chaîne trophique et son intérêt patrimonial en fait une espèce d'intérêt scientifique pour les recherches menées à La Réunion (Letourneur *et al.* 1998; Durville 2002; Pothin *et al.* 2004).

### 2.2 Dispositif expérimental en milieu enrichi en Ba:Ca

Suite au passage de deux évènements cycloniques à proximité de l'île de La Réunion en janvier 2008, un recrutement exceptionnel de larves d'*Epinephelus merra* a été observé sur le site de la baie de Saint-Paul. De jeunes individus ont été capturés par des pièges lumineux (Care © Ecocéan) dont 20 ont été choisis au hasard pour cette étude.

Les jeunes larves ont été placées en aquarium dans le but de les élever pour confirmer leur identification avant d'être pesées, mesurées puis congelées. Les aquariums du centre d'aquaculture de l'ARDA sont situés à la pointe des galets, sur la côte ouest de La Réunion, à quelques kilomètres de la baie de Saint-Paul et de la rivière des galets (Figure 28). Ils sont alimentés par un circuit d'eau de mer

ouvert dont le prélèvement se fait à 8 m sous le niveau du sol à 150 m au large de la pointe des galets. La masse d'eau de mer prélevée a une salinité de 330/00 et une température variant entre 25.5°C en saison fraîche et 27°C en saison des pluies (com. pers. Vincent Bernier). Les poissons ont été nourris par des éléments de diamètres croissants (artémia puis granulés de diamètre croissant) dont la composition élémentaire a été analysée : des artémias lors des 10 premiers jours d'élevage puis rapidement puis un mélange d'artémias et de granules pendant 10 autres jours et enfin des granulés de diamètres croissants pendant tout le reste du temps.

Les différentes nourritures ont été analysées selon le protocole de Tabouret et al. (2011). Elles ont été lyophilisées, réduites en poudre et homogénéisées. Environ 200 mg ont été pesés dans des tubes de 50 mL (Digiprep, SCP sciences). 5 mL d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub> ultrex à 50%) ont été ajoutés et le tout laissé réagir une nuit, puis chauffé à 60°C pendant 2 heures. Après refroidissement, 5 mL d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 70%) ont été ajoutés et laissés pendant 4 heures avant évaporation à sec à 80°C. Le résidu a été repris avec 10 mL d'acide nitrique à 20%, chauffé 20 minutes à 40°C et dilué à 50 mL avant analyse des éléments Ca, Sr, Ba et Mn par spectrométrie d'émission atomique, couplée à une torche à plasma (ICP-AES). Des blancs de procédures ainsi que des échantillons de matériaux certifiés (DORM-2 Dogfish muscle, CNRC, Canada) ont été préparés de la même façon que la nourriture et utilisés pour soustraire la contribution des réactifs et vérifier la précision et l'exactitude des analyses, respectivement.

### 2.3 Otolithométrie

Les paires de sagitta ont été extraites de chaque individu échantillonné, lavées selon le protocole de Jones and Chen (2003) avec de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ultrex), rincé avec. Les sagittae de gauche ont été enrobé dans un socle de résine d'Araldite (Meliodent) sur leur face sagittale afin de mettre en évidence leur centre puis polies sur du papier abrasif de granulométrie de plus en plus fine (9.0, 3.0 and 0.1  $\mu$ m) (Escil, Chassieu, France). Enfin, les otolithes ont été rincés avec de l'eau 18.2 M $\Omega$  MQ et séchés avant leur analyse par LA-ICP-MS. Chaque section d'otolithe ainsi obtenue a été photographiée en lumière transmise en zoom 400x à travers un système vidéo d'analyse d'image et de comptage de marques journalières de croissance. Les sagittae de droite ont été enrobé dans de l'Araldite pour leur analyse avec un laser IR 1,030-nm femtoseconde (fs-LA, Alfamet Novalase, France) couplé à un Elan DRC II (Perkin Elmer SCIEX spectromètre de masse à plasma) selon le protocole détaillé dans Tabouret *et al.* (2010). Un transect continu linéaire a été réalisé à travers les otolithes d'un bord à l'autre de l'otolithe en passant par le centre à une vitesse de 5  $\mu$ m.s<sup>-1</sup> et sur une largeur de 30 $\mu$ m. Le rayon laser tirait avec une énergie de 20J.cm<sup>-2</sup> et une fréquence de 500Hz. La précision des analyses a été calibrée avec le standard

de référence n°21 pour les otolithes de poissons (Institut National pour les Etudes Environnementales, Japon) (Yoshinaga *et al.* 2000) analysé plusieurs fois. 5 éléments ont été mesurés (Ca, Sr, Ba, Mg et Mn). De par la composition en aragonite de l'otolithe ( $\text{CaCO}_3$ ), le calcium a été utilisé en tant que standard interne pendant chaque ablation pour contrôler les variations dans la profondeur d'ablation et dans l'efficacité du transport de l'aérosol. Le bruit de fond des mesures a été mesuré pendant 20 s avant chaque tir laser puis a été soustrait du signal mesuré par l'ablation des otolithes. Les concentrations absolues du Sr, Ba, Mg et Mn ont été calculées en ppm à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée sur l'analyse de granules de calcites (Barats *et al.* 2007) et les matériaux de référence 610, 612 et 614 du NIST (National Institute of Standards and Technology) (Martin *et al.* 2013). Sr, Ba, Mg et Mn ont été exprimés en rapport au Ca (Sr:Ca, Ba:Ca, Mg:Ca et Mn:Ca) à partir des proportions stoechiométriques du carbonate de calcium (389 mg/Ca g<sup>-1</sup> de l'otolithe ou 9,71 nmol/Ca g<sup>-1</sup> de l'otolithe) du fait que ces éléments peuvent se substituer au calcium dans la matrice otolithique (Campana *et al.* 1999b). Les mesures ont été converties en ration molaire (mmol.mol<sup>-1</sup> Ca pour le Sr et  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$  pour le Ba, Mg et Mn). Les limites de détection ont été calculées à partir de la moyenne du blanc et la déviation standard en  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$  Ca.

## 2.4 Analyse des eaux

Les eaux de l'aquarium ainsi que les eaux marines de surface du site de la baie de Saint-Paul et de la pente externe du récif corallien de Saint-Gilles ont été échantillonnées selon le protocole de Tabouret *et al.* (2010). Les flacons de prélèvement préalablement rincés 3 fois à l'eau de mer ont été immergés dans la masse d'eau à échantillonner. Rapidement, l'échantillon a été filtré sur papier Whatman 0,45  $\mu\text{m}$  préalablement rincé à l'eau de mer. Le filtra a ensuite été acidifié avec de l'acide nitrique ultrex à hauteur de 2% du volume du prélèvement. Ainsi 4 échantillons d'eau hebdomadaires ont été récoltés pendant 1 mois pour s'assurer de la stabilité du rapport Ba:Ca dans les eaux des aquariums. Les eaux marines de la baie de Saint-Paul ont été prélevées en surface une fois par mois entre le 25 mars 2012 et le 9 février 2013. Jusqu'au 11 décembre 2012, les prélèvements ont été effectués lors de conditions météorologiques normales. Ceux de janvier et février 2013 ont été réalisés juste après le passage des cyclones Dumile (janvier) et Felleng (février), des conditions proches de celles des cyclones de 2008, Fame et Gula, probablement à l'origine du phénomène de recrutement larvaire exceptionnel. Ces prélèvements ont été également réalisés sur la pente externe du récif face à la barrière récifale de Saint-Gilles afin de comparer les eaux marines de la baie de Saint-Paul avec celles d'un récif corallien.

## 2.5 Traitement des données

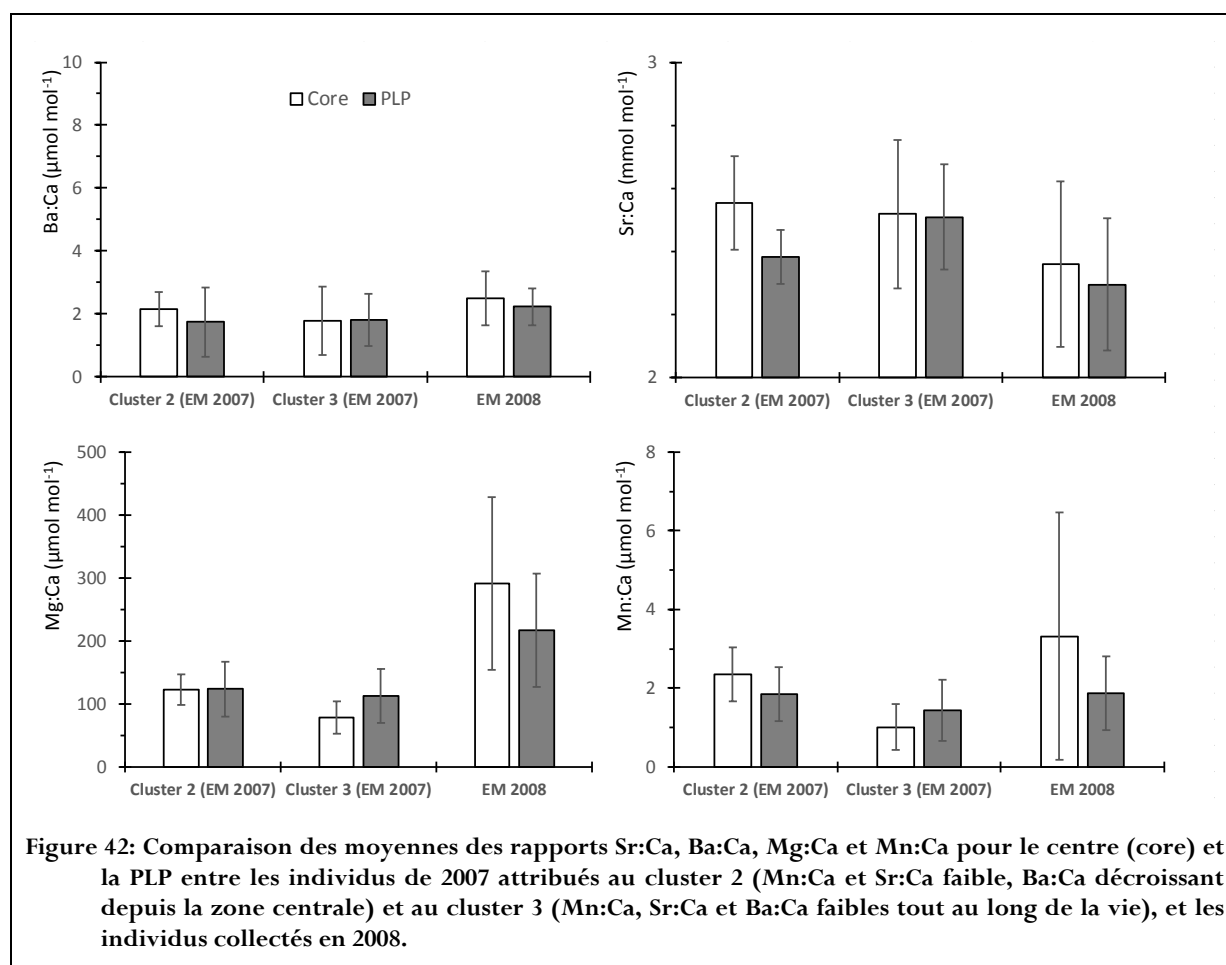
Une analyse hiérarchique de cluster (HAC) avait été préalablement réalisée sur les données géochimiques du nucléus et de la phase larvaire pélagique (PLP) des otolithes des mérous collectés dans les différents récifs de la Réunion en 2007 (Riou et al, 2015). Celle-ci avait permis de mettre en évidence 3 clusters. L'analyse hiérarchique de cluster (HAC) a été renouvelée en intégrant les données géochimiques du nucléus et de la PLP des 20 individus de 2008 afin de déterminer à quel cluster les différents individus pouvaient être affectés de manière la plus probable, ou s'ils produisent un nouveau groupe différencié.

Les individus ont également été examinés et classés qualitativement sur la base des profils du Ba:Ca et comparé à ceux obtenus en 2007. Au regard des variations observées et de la mise en aquarium dès la capture, l'histoire de vie des individus a été découpée en 4 phases: 1) la zone centrale (nucléus) qui correspond à la signature maternelle enregistrée dans les otolithes, 2) le début de la période de vie larvaire (PLP) suivant l'éclosion, 3) la fin de la dispersion larvaire qui correspond probablement aux quelques jours pendant lesquels les larves ont été activement transportées vers la baie de Saint-Paul (signal convergent commun à tous les individus), puis 4) la période d'incubation en aquarium.

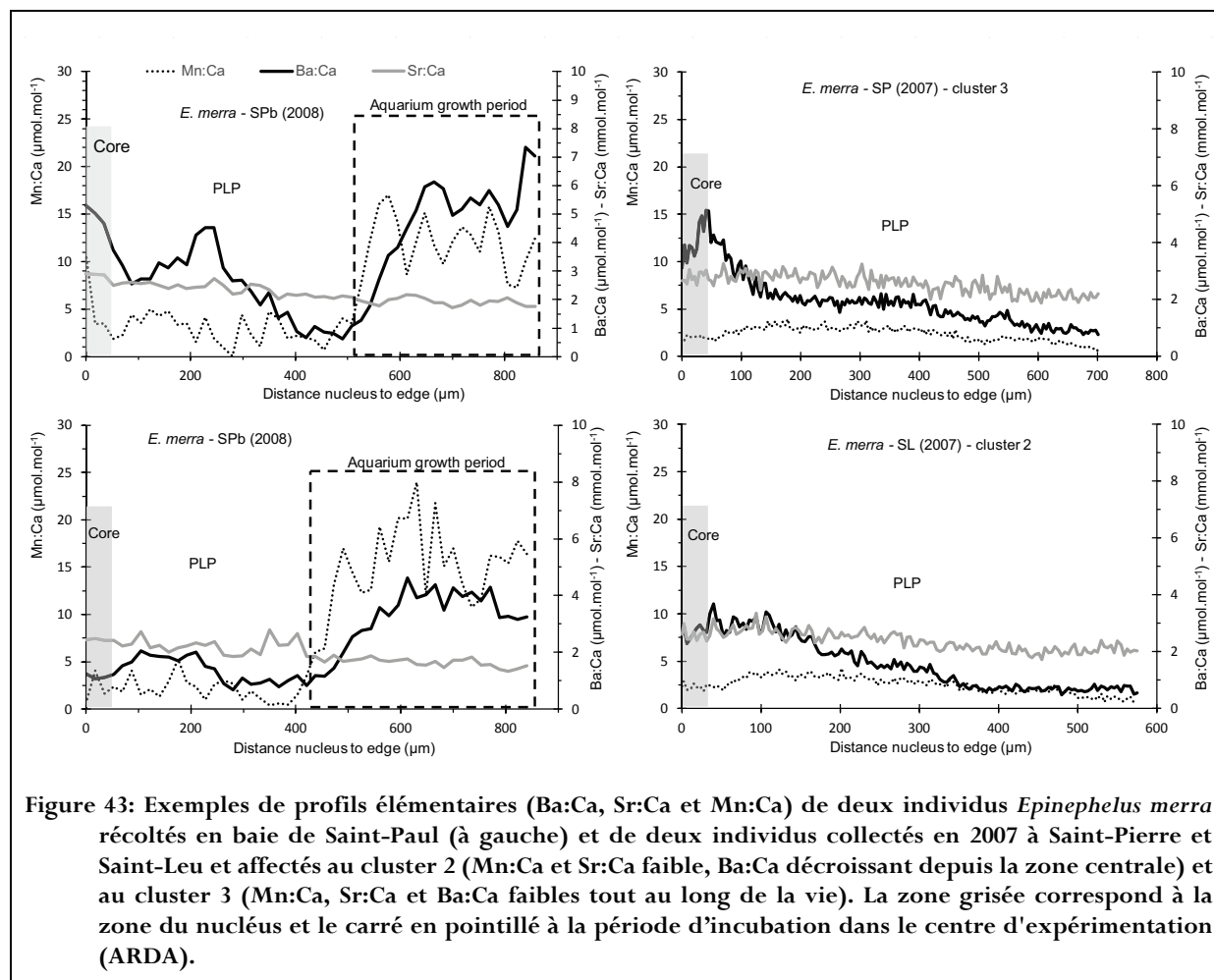
## 3 Résultats

### 3.1 Origine et dispersion larvaire

L'analyse hiérarchique en clusters (HCA) met en évidence que les individus récoltés en 2008 dans la baie de Saint-Paul ne trouvent pas d'équivalence avec ceux analysés en 2007. Parmi les différents rapports géochimiques moyens du nucléus et de la PLP (Sr:Ca, Ba:Ca, Mg:Ca et Mn:Ca), c'est le Mg:Ca qui explique très largement l'absence de correspondance (Figure 42) avec des valeurs plus fortes que chacun des 3 clusters de 2007. Pour le Ba, on observe une relativement bonne concordance avec les deux clusters 2 et 3 de 2007 qui comprenaient les larves possédant des otolithes pauvres en Ba:Ca. En ce qui concerne le Sr:Ca, des valeurs moyennes légèrement plus faibles sont observées en 2008 par rapport à 2007.



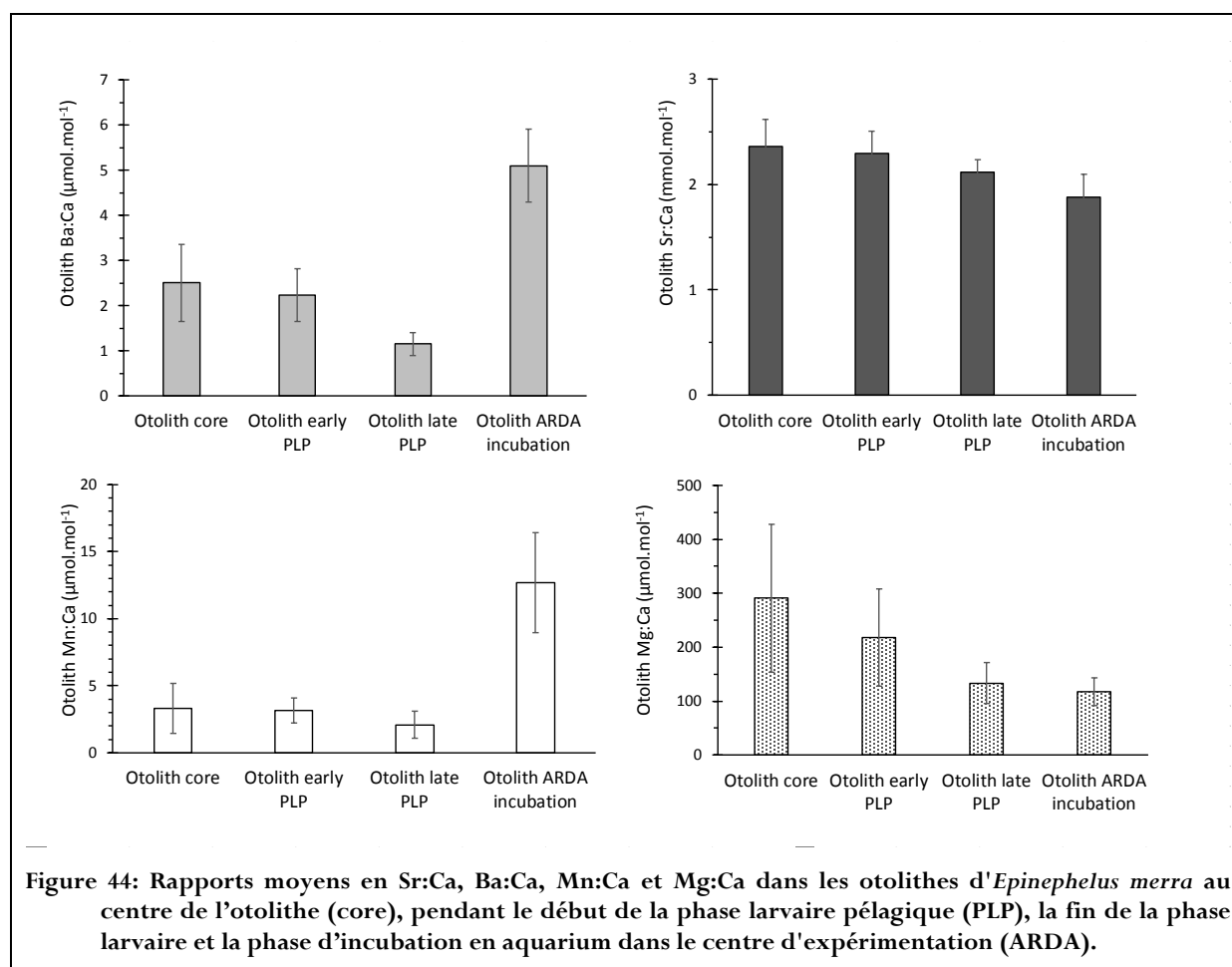
L'examen des profils élémentaires permet d'obtenir des informations plus détaillées sur d'éventuels changements de milieu de vie au cours de la vie larvaire. Pendant la période larvaire avant capture, les individus de 2008 présentent des variabilités du Ba:Ca, Sr:Ca et Mn:Ca assez similaires à des individus de 2007 récupérés dans les 4 zones récifales (voir l'exemple de quelques individus de 2007 et 2008 sur la Figure 43). Le Sr:Ca et Mn:Ca restent relativement stables tout au long de cette période, avec respectivement des valeurs autour de  $2,2 \pm 0,3 \text{ mmol.mol}^{-1}$  et  $3 \pm 0,6 \mu\text{mol.mol}^{-1}$  (Figure 44). Le Ba:Ca quant à lui est caractérisé par des rapports un peu plus élevés lors du développement embryonnaire (nucléus :  $2,5 \pm 0,9 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et du début de la dispersion larvaire ( $2,2 \pm 0,6 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ), diminuant ensuite pour atteindre une valeur minimum en fin de vie larvaire ( $1,1 \pm 0,3 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) (Figure 43 et Figure 44).



### 3.2 Phase d'incubation des larves dans les eaux enrichies en Ba:Ca

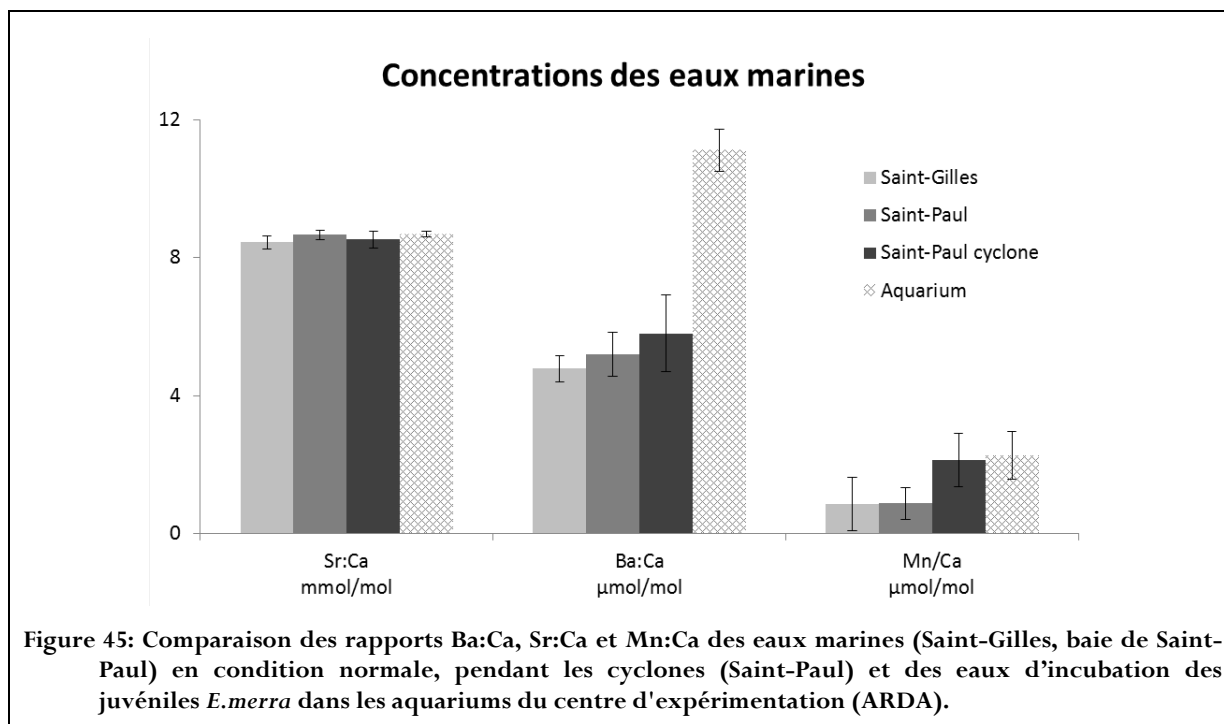
Les profils chimiques de Ba et Mn montrent une évolution très nette lors du transfert des larves dans les aquariums de l'ARDA. La phase d'incubation se distingue en effet très distinctement de la phase larvaire avec des rapports beaucoup plus élevés en ces deux éléments (Figure 43 et Figure 44), les taux mesurés sont multipliés jusqu'à 2,5 pour le Ba ( $5,09 \pm 1,34 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et par 3,5 pour le Mn ( $14,50 \pm 6,00 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ). Le strontium quant à lui diminue sensiblement entre ces deux phases de vie passant de  $2,29 \pm 0,35 \text{ mmol.mol}^{-1}$  à  $1,90 \pm 0,29 \text{ mmol.mol}^{-1}$  (Figure 44). L'analyse sclérochronologique des otolithes confirme que l'enrichissement de l'otolithe en manganèse et en baryum coïncide avec la période de début d'incubation des *E. merra* dans les aquariums.



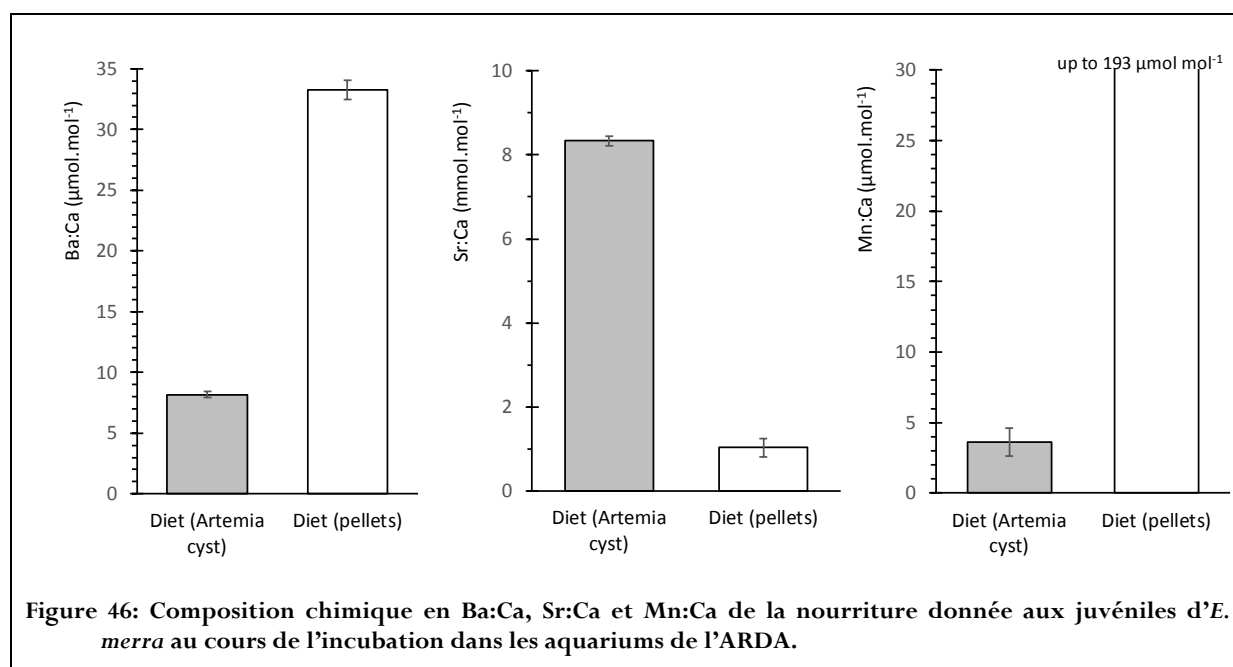


### 3.2. Composition géochimique des eaux de la nourriture

La composition chimique des eaux marines prélevées en baie de Saint-Paul et celles prélevées directement dans les aquariums révèlent une homogénéité de la teneur en strontium ( $8,7 \pm 0,1 \text{ mmol.mol}^{-1}$ ). La concentration en baryum est par contre 2 fois plus importante dans les aquariums ( $11,1 \pm 0,6 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) que dans le milieu marin ( $5,2 \pm 0,6 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ), confirmant les observations préliminaires (Riou, données non publiées). Enfin, la concentration en manganèse est multipliée par 2,5 dans l'aquarium, passant de  $0,9 \pm 0,5 \mu\text{mol.mol}^{-1}$  dans le milieu marin à  $2,3 \pm 0,7 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ . A Saint-Gilles, sur la pente externe face aux récifs coralliens, la composition des eaux marines est comparable à celle de la baie de Saint-Paul (Figure 45). Les prélèvements d'eaux marines en saison cyclonique montrent une élévation de la teneur en Manganèse ( $2,1 \pm 0,8 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et une légère hausse de la teneur en baryum ( $5,8 \pm 1,1 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ). Il faut cependant souligner que les concentrations en Mn sont beaucoup plus variables dans le temps que celles du Ba et du Sr.



Les larves ont été nourries avec deux types de nourriture au cours de l'incubation, les premiers jours avec des artémia, puis un mélange artémia + granules de petites tailles, et enfin avec essentiellement des granules de tailles croissantes au fur et à mesure de leur croissance. Les deux types de nourriture donnés aux *E. merra* ont une composition chimique relativement différente vis-à-vis du Ba, Sr et Mn (Figure 46). Comparés aux artémia, les granules sont plus riches en baryum ( $33,3 \pm 1,2 \mu\text{mol.mol}^{-1}$  contre  $8,2 \pm 0,2 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et manganèse ( $193 \pm 16 \text{ mmol.mol}^{-1}$  contre  $4 \pm 2 \text{ mmol.mol}^{-1}$ ) et plus pauvres en strontium ( $1,0 \pm 0,2 \text{ mmol.mol}^{-1}$  contre  $8,3 \pm 0,2 \text{ mmol.mol}^{-1}$ ) (Figure 46).



#### 4. Discussion

##### 4.1 Origine des larves transportées massivement dans la baie de Saint-Paul en 2008

Le Ba:Ca incorporé dans les otolithes d'*Epinephelus merra* capturés sur les quatre principaux récifs coralliens de la côte ouest de l'île de La Réunion lors de l'été 2007, avait permis la distinction de deux groupes de poissons dont la signature géochimique en phase larvaire était significativement différente, l'un caractérisé par un faible rapport Ba:Ca et l'autre par un fort rapport (Riou *et al.* 2015). La composition chimique des otolithes des *E. merra* capturés en 2008 est comparable à celle déjà observée en 2007 dans la partie la plus au nord des récifs de la Réunion, avec essentiellement des individus du groupe pauvre en baryum. Ceci est assez surprenant, car au regard des résultats obtenus sur les deux autres espèces *A. triostegus* et *P. imparipennis* lors de l'été 2012/2013 (Riou *et al.* submitted) on aurait pu s'attendre à retrouver en 2008 des larves d'*E. merra* avec des concentrations élevées en Ba. En effet, si les individus avec peu de Ba dans leurs otolithes étaient présents de façon prépondérante en hiver et lors des étés caractérisés par une faible activité cyclonique, une large proportion de larves d'*A. triostegus* et de *P. imparipennis* présentant des teneurs élevées en Ba a été rencontrée lors de l'été 2012/2013 où l'île de la Réunion a été soumise à une activité cyclonique plus marquée. Il faut néanmoins souligner que l'épisode 2008 correspond à un recrutement en masse, ce qui n'était pas le cas pour *A. triostegus* et de *P. imparipennis* en été 2012/2013. Il n'est pas inconcevable de penser que le gradient nord-sud (baie de

Saint-Paul à Saint-Pierre) mis en évidence par (Riou *et al.* 2015) au niveau de la composition en Ba:Ca des otolithes d'*E. merra* soit le cas général, l'apport d'individus marqués par des teneurs fortes en Baryum dans les régions nord ne se produisant qu'à la faveur de conditions climatiques assez particulières.

Il est intéressant de signaler que les otolithes d'*E. merra* de 2008 se distinguent par une signature multi-élémentaire relativement uniforme, mais qui dévie assez sensiblement des 3 groupes observés en 2007. Ce résultat confirme l'existence d'une importante variabilité temporelle des signatures géochimiques enregistrées dans les otolithes (Martin & Thorrold 2005; Walther & Thorrold 2009). Nous avons pu constater que c'est principalement le Mg:Ca qui est à l'origine de l'apparition d'une signature différente de celles obtenues en 2007. Une assez grande variabilité a été observée au niveau du Mg:Ca dans des otolithes de larves de plusieurs espèces marines (Sadovy & Severin 1994; Martin *et al.* 2004; Bath Martin & Thorrold 2005). L'incorporation de cet élément dans les otolithes semble être relativement complexe. La chimie du milieu ambiant n'est pas à priori le facteur prépondérant, alors que les quelques résultats disponibles sur les effets d'autres facteurs (croissance somatique, nourriture, vitaux et intrinsèque) ne semblent pas unanimes (Hamer & Jenkins 2007; Sturrock *et al.* 2012). Son utilisation en tant qu'indicateur d'origine ou de dispersion semble donc être sujette à caution. Si l'on ne prend pas en compte le Mg:Ca, la signature des otolithes de 2008 serait comparable au cluster 2 et 3 de 2007, eux même seulement différents de par le Sr:Ca qui suggère une masse d'eau de température ou salinité légèrement différente. On peut donc raisonnablement supposer que les larves d'*E. merra* arrivées massivement dans la baie de Saint-Paul en 2008 sont de même origine que celles rencontrées dans le récif de Saint-Gilles en 2007.

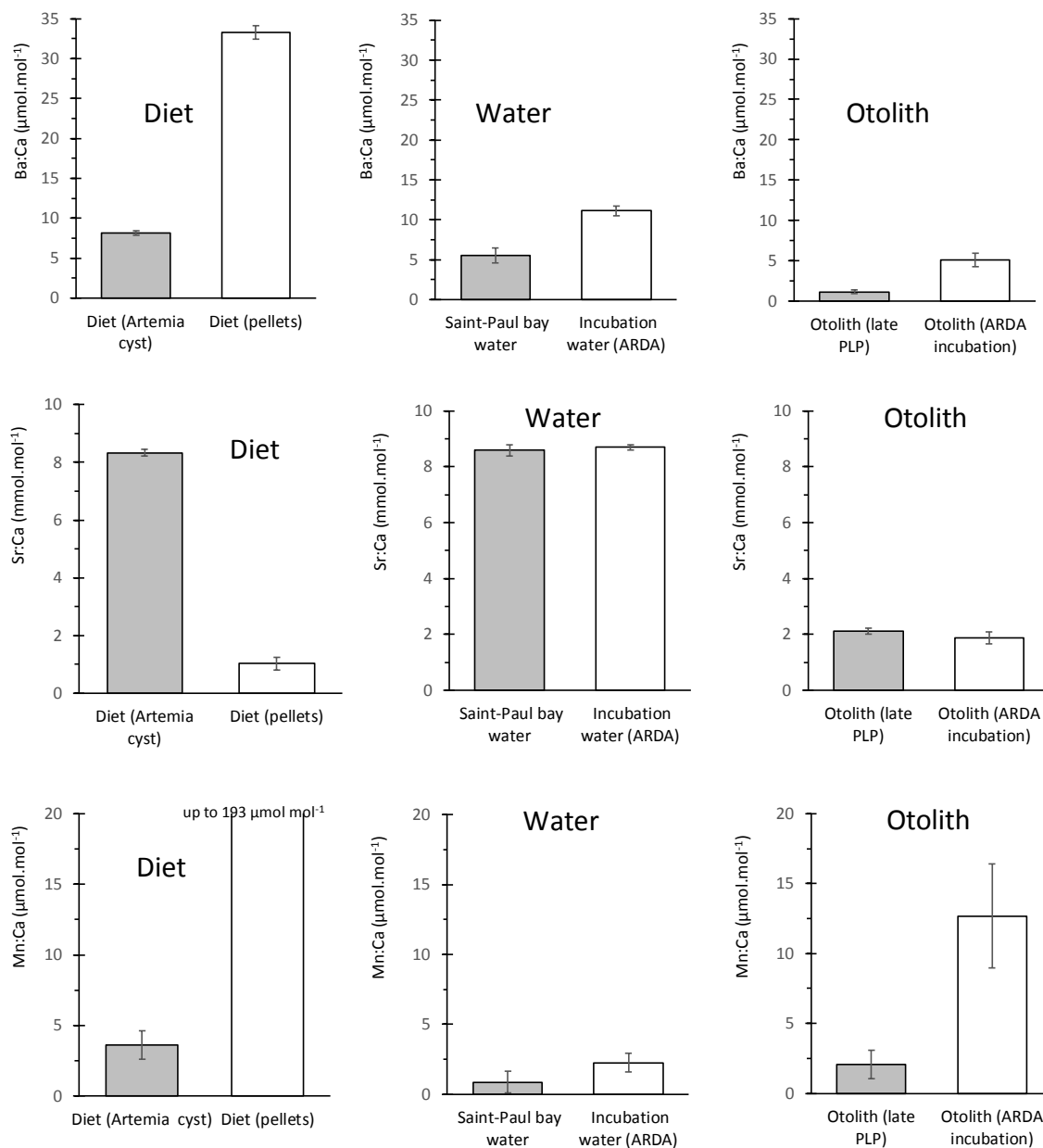
Les analyses d'eau prélevée en condition cyclonique au plus proche de l'embouchure de la rivière principale se déversant dans la baie de Saint-Paul montrent une stabilité du ratio Sr:Ca pendant ces événements, mais un enrichissement modéré en Ba:Ca et un enrichissement plus net en Mn:Ca. D'autre part, le rapport Ba:Ca revient très rapidement (en 2 jours) à une valeur classique pour l'eau de mer. Ces apports d'eau douce semblent donc n'avoir qu'un faible impact temporel sur la teneur en baryum de la masse d'eau marine, temps qui n'est probablement pas suffisant pour impacter les otolithes des poissons résidant dans la baie. C'est en accord avec les faibles valeurs du Ba:Ca des otolithes des *E. merra* : il y a peu de variations de la concentration chimique en manganèse ou en baryum à cette courte période de la vie des poissons (phase pélagique). On peut supposer cependant que le temps de résidence dans les masses d'eau côtière de ces individus arrivés à La Réunion par un phénomène de recrutement exceptionnel soit trop court pour que les masses d'eau de la baie puissent avoir le temps d'influencer significativement la composition chimique des otolithes.

## 4.2 Le Ba:Ca est-il un bon marqueur de changement de milieu à la Réunion ?

Dans la mesure où tous les individus d'*E. merra* collectés en 2008 contenaient des otolithes pauvres en Ba:Ca tout au long de leur dispersion larvaire, leur incubation dans les eaux des aquariums enrichies en Ba:Ca offrait une bonne opportunité de vérifier le rôle de la concentration ambiante dans l'incorporation du Ba aux otolithes d'*E. merra*. Outre la chimie des eaux, des facteurs comme la nourriture, la température, la salinité, la croissance et l'ontogénie peuvent potentiellement résulter dans des changements du Ba:Ca dans les otolithes (Sturrock *et al.* 2012). Dans les conditions d'incubation qui ont été appliquées aux *E. merra* de 2008, les rapports Ba:Ca et Mn:Ca étaient plus élevés dans les eaux et la nourriture, par contre pour le Sr:Ca le rapport reste inchangé pour l'eau mais diminue fortement dans la nourriture (Fig. 6). De plus, on peut penser qu'en été, les eaux marines de surface dans lesquelles se sont dispersées les larves avaient une température un peu plus chaude que les eaux pompées dans l'aquifère ( $\approx 27^{\circ}\text{C}$ ). Enfin, la salinité des eaux des aquariums ( $\approx 33\text{‰}$ ) est légèrement plus faible que celle des eaux de surface ( $\approx 35\text{‰}$ ).

Suite à l'introduction des larves dans les aquariums, l'évolution des rapports en Ba:Ca et Mn:Ca est très prononcée avec une augmentation entre la fin de la PLP et la phase aquarium d'un facteur 4,4 pour le Ba:Ca (1,2 à 5,1  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et 6 pour le Mn:Ca (2,1 à 12,7  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) (Figure 47). Dans la littérature, il est admis que la nourriture contribue relativement peu à l'incorporation du Sr comme du Ba, mais cette contribution peut varier suivant les espèces, la température et la salinité, 17-35 % et 2-36 % respectivement pour le Sr et le Ba (Walther & Thorrold 2006; Izzo *et al.* 2015). Néanmoins, dans la mesure où la nourriture comme les eaux augmentent significativement dans le cas des incubations réalisées dans ce travail, il est difficile de jauger de l'effet de l'un et de l'autre sur la composition chimique de l'otolithe en Ba:Ca et Mn:Ca. En ce qui concerne l'incorporation du Mn dans les otolithes, le rôle de la chimie des eaux n'a pas été très clairement établi (Sturrock *et al.* 2012). Compte tenu d'un enrichissement d'un facteur 48 de la nourriture par rapport à celui de l'eau ( $\times 2,5$ ), il n'est pas exclu que la nourriture contribue de façon significative à l'augmentation d'un facteur 6 dans les otolithes pour cet élément. Pour ce qui est du Ba:Ca, c'est plus problématique. En effet, la concentration en baryum dans les eaux qui irriguent les aquariums est deux fois plus importante que celle du milieu naturel alors que la nourriture (en particuliers les granulés) est caractérisée par un enrichissement d'un facteur 4. L'évolution observée pour le strontium nous apporte cependant un élément de réponse sur la contribution de la nourriture. En effet, en l'absence de différence dans le Sr:Ca des eaux (8,7  $\text{mmol.L}^{-1}$  dans les eaux de surface et les eaux des aquariums, Figure 47), les variations du Sr:Ca dans les otolithes

sont alors liés aux changements de nourriture, de la température ou de la salinité. La nourriture de type artémia a une teneur en strontium très proche du milieu naturel ( $8,3 \pm 0,2$  mmol.mol<sup>-1</sup>), ce qui n'est pas étonnant pour un organisme marin. En revanche, les granulés sont pauvres en strontium ( $1,0 \pm 0,2$  mmol.mol<sup>-1</sup>) ce qui constitue une chute de 87% de l'apport en strontium par la nourriture. Malgré cela, les concentrations en strontium mesurées dans les otolithes ne diminuent que de 17% entre la phase pélagique à la phase de vie en aquarium (de  $2,29 \pm 0,35$  mmol.mol<sup>-1</sup> à  $1,90 \pm 0,29$  mmol.mol<sup>-1</sup>). Pourtant, une forte contribution de la nourriture aurait donc dû se traduire par une forte diminution du Sr:Ca dans les otolithes. D'autre part, si l'on se réfère aux mesures réalisées sur des *E. merra* capturés après 1 année de vie sauvage dans les mêmes récifs coralliens (Riou *et al.* 2015), la variation de la concentration en strontium entre la phase larvaire et la phase d'installation était plutôt légèrement à la hausse probablement en relation avec une plus forte température dans l'arrière récif voire une salinité également plus forte (relation positive entre Sr:Ca dans les otolithes et la température et la salinité, (Sturrock *et al.* 2012)). Dans le cas des aquariums, de plus faible température et salinité que dans les eaux marines de surface devraient donc engendrer toutes deux une diminution du Sr:Ca comme cela est observé (Figure 6). Il apparaît donc raisonnable de penser que l'évolution de la composition des otolithes en strontium est faiblement impactée par les variations de la composition chimique du régime alimentaire comme cela a déjà été observé (Walther & Thorrold 2006; Izzo *et al.* 2015). Il n'est pas concevable d'attribuer un rôle majeur à la nourriture dans le cas du Ba:Ca aussi dans la mesure où toutes les études disponibles ont démontré une contribution plus faible de la nourriture pour le Ba que pour le Sr (Walther & Thorrold 2006; Sturrock *et al.* 2012; Izzo *et al.* 2015).



**Figure 47: Synthèse sur les incubations d'*E. merra* dans les aquariums de l'ARDA : changement de concentrations du Ba, Sr et Mn entre la nourriture, l'eau et les otolithes.**

En résumé, les variations de concentration du Ba mesurés au sein des otolithes d'*E. merra* sont vraisemblablement plus reliées aux variation chimique de l'environnement qu'à celle de la nourriture, résultat confirmé par de nombreux travaux publiés sur d'autres espèces (Bath *et al.* 2000; Elsdon & Gillanders 2005; Walther & Thorrold 2006; Dorval *et al.* 2007). Le Ba est donc potentiellement un marqueur d'origine et de dispersion à condition que les larves traversent des zones de compositions hétérogènes en cet élément.

### 4.3 Des marqueurs naturels

L'eau utilisée dans notre expérience pour alimenter les aquariums est une eau naturellement enrichie en Baryum qui provient soit de la recirculation des eaux marines dans l'aquifère côtier en se chargeant en Ba par échange d'ions avec le substrat solide (Gonneea *et al.* 2013), soit d'apports par eaux souterraines (Shaw *et al.* 1998; Colbert & McManus 2005; Lin *et al.* 2010). Au-delà de cette découverte qui n'avait encore jamais été mesurée à La Réunion, les caractéristiques de cette source laissent à penser qu'elle puisse avoir une influence dans le milieu naturel. C'est en effet une masse d'eau qui percole à travers le socle basaltique de la pointe des galets sur l'extrémité ouest de l'île de La Réunion. Peu profonde (8 m sous le fond sous-marin), il est probable qu'elle puisse influencer la colonne d'eau au droit de la pointe des Galets comme dans d'autres secteurs géographiques autour de l'île. Il est toutefois intéressant de constater que cette source potentielle sur le bord nord de la baie de Saint-Paul n'influence pas très largement les larves présentes dans cette baie. En effet, en période hivernale et lors des étés non soumis à une activité cyclonique importante, les larves d'*Epinephelus merra*, d'*Acanthurus triostegus* et de *Plectroglyphidodon imparipennis* recrutant dans le secteur, ne sont pas caractérisées par des rapports Ba:Ca élevés (Riou *et al.* 2015; Riou *et al.* submitted). De plus la présence d'un grand nombre d'*Epinephelus merra* présentant un fort Ba:Ca dans les récifs sud en 2007, Saint-Pierre et Saint-Leu, suggère que d'autres spots enrichis en Ba sont largement présents au sud de l'île et ont une influence plus marquée. Il en est de même pour les larves d'*Acanthurus triostegus* et de *Plectroglyphidodon imparipennis* dans la mesure où des otolithes enrichis en Ba n'ont été retrouvés que lors de l'été 2012/2013, en raison d'une forte influence cyclonique. D'ailleurs, la présence de pics de Ba en fin de phase pélagique sur ces deux espèces suggère que les larves ont traversées des zones riches en Ba pas très loin du récif de Saint-Gilles et de la baie de Saint-Paul.

L'île de La Réunion est une jeune île volcanique qui repose sur un socle basaltique poreux. De par cette nature géologique des sols, il est probable qu'il puisse exister de nombreuses zones tout autour de l'île aux caractéristiques géologiques et physico-chimiques semblables à cette source de la pointe des galets. Afin de faire progresser les études liées à la chimie des otolithes et leurs interprétations à La Réunion, il s'avère nécessaire d'identifier ces sources naturelles. Il est probable qu'elles soient un facteur principal permettant d'expliquer les variations de concentrations mesurées dans les otolithes, plus régulier que les apports d'eau douce de surface lors des événements cycloniques. Elles peuvent également survenir en tout point de la côte, tant à travers les récifs coralliens, comme cela a été mesuré sur l'ancien parc à huître d'Etang-Salé (Riou *et al.*, données non publiées), qu'à travers le socle basaltique. Ainsi, leur persistance dans le temps permettrait d'expliquer une partie des mesures réalisées tout au long des deux années de prélèvements des *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis*



(Riou *et al.* submitted) ainsi que les enrichissements mesurés sur les *E. merra* capturés en 2008 (Riou *et al.* 2015) pendant la phase adulte.

Cette étude ouvre ainsi la porte à deux axes de recherche:

1) l'expérimentation en milieu contrôlé ou semi-contrôlé afin de préciser notre compréhension des facteurs influençant la composition chimique des otolithes

2) la prospection des sources naturelles d'enrichissement en éléments traces, potentiels marqueurs de stocks des poissons coralliens.

### **Remerciements :**

Les auteurs remercient la Région Réunion pour le financement apporté à cette étude ainsi que l'Institut de Recherche et Développement, la Réserve Naturelle Marine de La Réunion et le Laboratoire de Chimie Analytique et Bio-Inorganique de l'Environnement. Les auteurs remercient également l'Ifremer en la personne de Delphine Muths. Merci à Vincent Bernier pour sa communication.

### IV.1.2 Synthèse

A travers cette étude, nous avons appris qu'il existe, au moins en un point particulier à La Réunion, celui de la pointe des galets, une percolation d'eau moins salée que l'eau de mer, chargée en baryum. L'analyse de ces eaux montre bien un taux de baryum supérieur à celui des eaux marines de la baie de Saint-Paul. Cette eau, lorsqu'elle devient l'environnement de vie d'un poisson corallien, enrichie systématiquement les otolithes des individus en baryum. Cet enrichissement au sein de l'otolithe intervient rapidement après le premier contact, quelques jours plus tard. Cette percolation d'eau dessalée et enrichie est rendue possible grâce au socle basaltique poreux de La Réunion. L'eau douce retenue dans le socle terrestre est rejetée dans la masse d'eau marine côtière.

Bien qu'il reste d'autres sources locales possibles d'enrichissement de l'eau marine en baryum qui n'ont ici pas été testées (upwelling, adsorption de baryum par décharge massive de sédiments lors de fortes pluies), la géologie entièrement volcanique de l'île de La Réunion permet d'envisager que le phénomène mesuré à la pointe des galets puisse ne pas être unique tout autour de l'île, que ce soit sur des côtes basaltiques ou à travers le récif corallien.

Nous avons vu ainsi que des sources locales d'enrichissement des masses d'eau en baryum existent de façon suffisamment durable pour impacter la microchimie de l'otolithe des poissons coralliens existents. Qu'en est-il cependant des conditions de recrutement exceptionnelles auxquelles on peut assister lors d'événements cycloniques ? Ces derniers ont le potentiel d'effectuer des transports larvaires passifs depuis d'autres îles voisines (Crochelet 2010). Les sources de baryum peuvent-elles également provenir d'une source qui soit extérieure à l'île de La Réunion ?

## IV.2 Dans l'océan Indien

Les phénomènes de variations de la concentration chimique des otolithes de poissons coralliens mesurés à l'île de La Réunion révèlent des histoires de vie particulières pour différents groupes d'individus en fonction de l'espace et du temps. Une source locale à La Réunion a été identifiée confortant l'hypothèse que les individus frayant dans les eaux réunionnaises peuvent être marqués par des sources de percolation d'eau douce. Mais les conditions cycloniques, récurrentes sur l'île de La Réunion, peuvent également être le support de transports larvaires exceptionnels. Comment alors les populations extérieures à La Réunion peuvent contribuer à la diversité des signatures chimiques mesurées dans les otolithes des poissons coralliens à La Réunion. Afin de savoir si notre cas d'étude est un phénomène isolé ou si des cas similaires peuvent se retrouver à l'échelle de la région de l'océan Indien de l'Ouest, nous nous intéressons à l'analyse des otolithes d'*Epinephelus merra* prélevés sur différents site de l'océan indien de l'ouest.

### IV.2.1 Diversité de la microchimie des otolithes d'*Epinephelus merra* à Madagascar, aux Maldives et Iles Eparses

Des *E. merra* adultes ont été prélevés dans 4 localités de l'océan Indien de l'Ouest en 2008 par le programme de recherche CAMP. L'échantillonnage a été effectué aux Maldives, sur les îles de Sainte-Marie à Madagascar et sur les Iles Eparses de Juan De Nova et d'Europa. Afin d'avoir un élément de comparaison, les otolithes issus des poissons prélevés à La Réunion en 2008 (chapitre 2 de cette thèse) ont été ajouté à cette étude comparative. (Figure 48) Les poissons ont été obtenus soit par pêche directe (filets, fusil sous-marin) lors de campagne scientifique, soit par achat du poisson auprès des pêcheurs locaux.



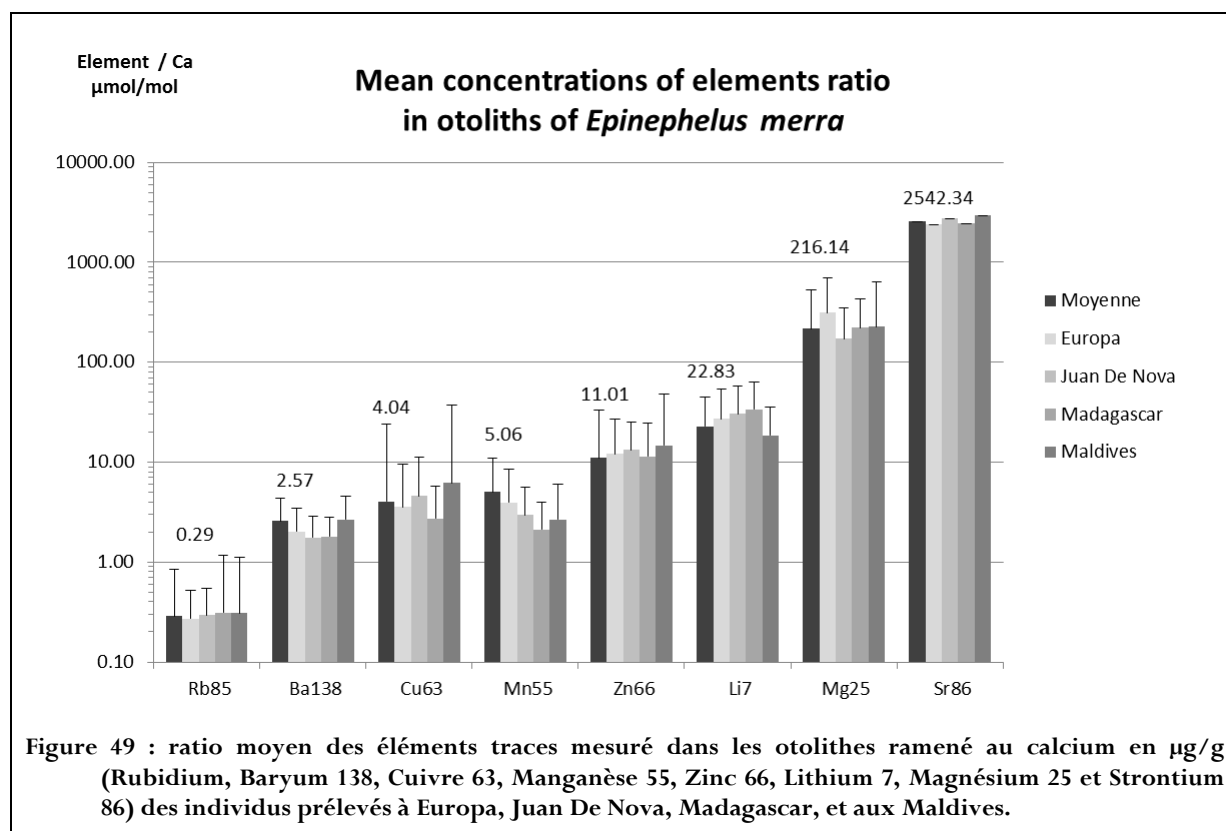
Figure 48 : carte des sites de prélèvement des *Epinephelus merra* à l'échelle de l'océan Indien de l'Ouest.

Les otolithes des individus collectés ont été extraits sur place et conservés dans des tubes individuels au sec.

La méthodologie d'extraction et d'analyse des otolithes est identique à toutes les analyses effectuées dans cette étude (voir chapitre microchimie). La campagne de prélèvement n'a pas permis de prélever un nombre identique d'individus : 5 individus ont été récoltés à Juan De Nova, Europa et Madagascar, prélevé sur une station dans chaque lieu. 25 individus ont été prélevés à Madagascar sur une station et 58 proviennent de La Réunion sur 4 stations différentes (voir protocole chapitre 2). La

composition chimique de chaque otolithe a été analysée par ablation laser de type scan aux paramètres comparables : seule la largeur du transect varie entre les individus issus de La Réunion (80µm de largeur) et des autres (30µm de largeur).

Les premiers résultats montrent que les otolithes provenant de l'océan Indien de l'Ouest présentent une composition chimique en élément traces (Rb85, Ba138, Cu63, Mn55, Zn66, Li7, Mg25 et Sr86) comparable mais avec des écarts types important (Figure 49).



Afin d'affiner l'étude de ces mesures, nous choisissons d'évaluer en détail les profils élémentaires de la composition chimique des otolithes des individus de chaque localité. Dans le cadre de notre étude, nous nous concentrons sur l'élément qui nous intéresse principalement, le ratio Ba:Ca qui en moyenne sur les 5 sites a une valeur de  $2,19 \pm 1,47 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ . Les valeurs moyennes de Ba:Ca de La Réunion ( $2,70 \pm 1,96 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) sont comparables à celles mesurées dans les otolithes provenant des Maldives ( $2,67 \pm 186 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ). Elles sont en revanche supérieures à celles mesurées à Europa ( $2,03 \pm 1,42 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ), Juan De Nova ( $1,76 \pm 1,10 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ) et Madagascar ( $1,81 \pm 1,00 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ ).

Pour chaque localité, l'écart type est supérieur à 50% de la valeur moyenne ce qui traduit une forte variation des valeurs à l'échelle de l'échantillon. Individuellement, nous retrouvons plusieurs types de profils élémentaires (Figure 50). Basés sur les profils des études précédentes, nous avons classés les types de profil selon la teneur en baryum dans la première partie de vie (phase larvaire pélagique) et

dans la seconde partie de vie (phase benthique). Pour chaque phase de vie, la teneur en baryum a été caractérisée comme faible (L) ou forte (H).

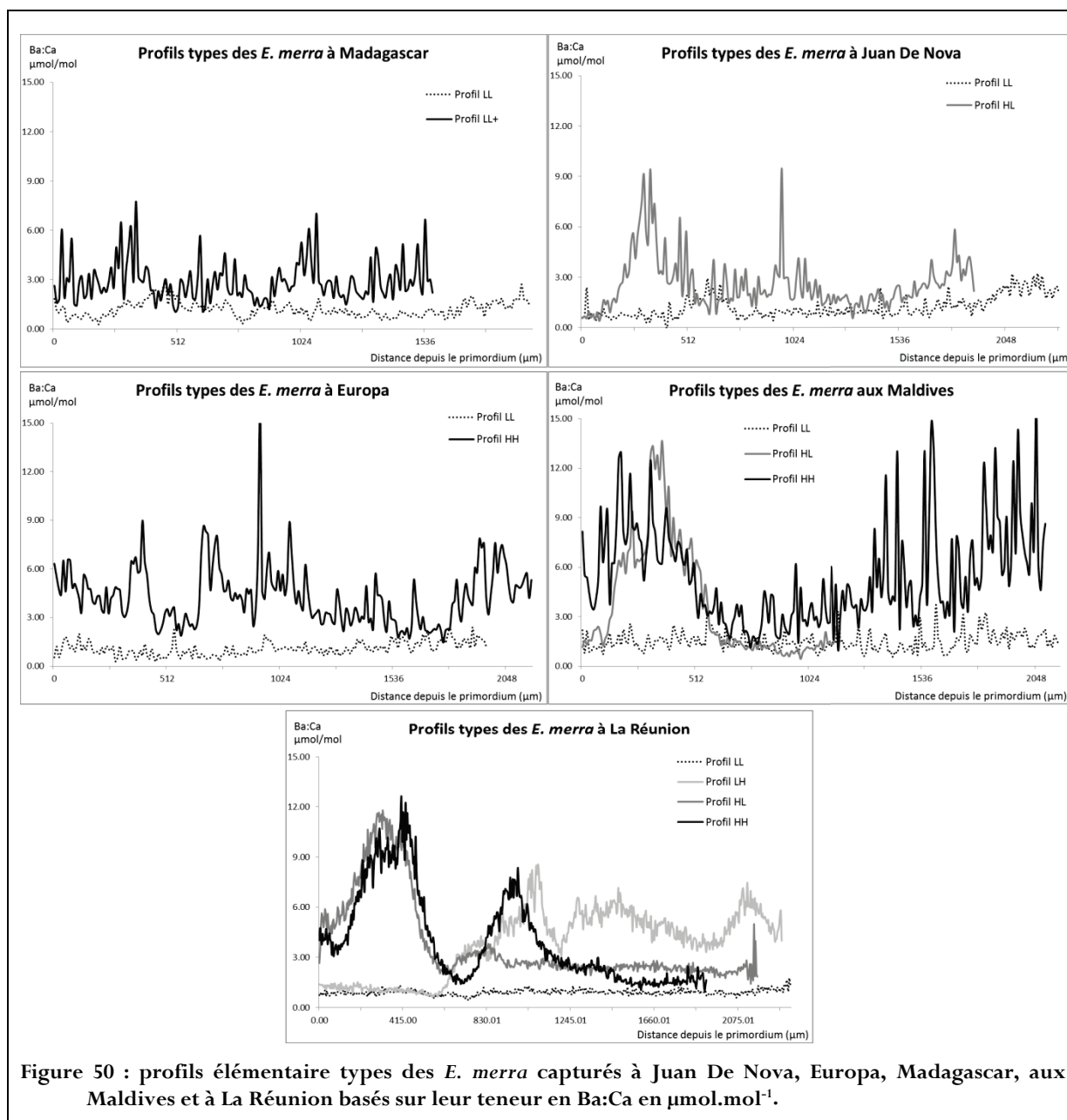


Figure 50 : profils élémentaire types des *E. merra* capturés à Juan De Nova, Europa, Madagascar, aux Maldives et à La Réunion basés sur leur teneur en Ba:Ca en  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ .

Dans chaque localité, le profil LL indique la teneur de base en baryum des otolithes. Celle-ci est homogène sur les 5 sites d'échantillonnage ( $1,35 \pm 0,53 \mu\text{mol.mol}^{-1}$  en moyenne). A côté de ces profils suivant la ligne de base de l'environnement marin, on retrouve des profils chargés en baryum à différents moments de la vie, tout comme il a été observé à La Réunion. Ces valeurs dites supérieures à la normale atteignent au moins 3 à 4 fois les valeurs de référence. Aux Maldives tout d'abord, archipel d'atolls coralliens, les Profils HL et HH se retrouvent en majorité (18 profils sur 25) sur le même site d'échantillonnage. A Europa également, 2 profils sur 5 montrent des teneurs en baryum supérieures à la normale tout comme à Juan De Nova. A Madagascar en revanche, parmi les 5 profils mesurés, aucun ne

montre de teneur en Ba:Ca aussi forte que dans les localités. On observe cependant des profils très bas (LL) et certains dont la teneur de base est légèrement supérieure à la normale (LL+). Dans chaque site de l'océan Indien de l'Ouest, on retrouve donc des individus plus ou moins fortement marqués par des teneurs en Baryum/Calcium importante dont les maxima sont équivalents d'un pays à l'autre (autour de 6 à 10  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ )

#### IV.2.2 Synthèse

Avec cet aperçu des teneurs en Ba:Ca d'une espèce récifale corallienne commune à toutes les localités de l'océan Indien de l'Ouest, *Epinephelus merra*, nous savons à présent qu'à l'échelle d'un océan, la teneur de base enregistrée dans les otolithes d'une même espèce reste sensiblement identique.

Nous apprenons également que des enregistrements de taux de Ba:Ca 3 à 4 fois plus forts que la norme environnementale peuvent se retrouver dans les otolithes d'individus prélevés sur les Iles Eparses (Europa et Juan De Nova) et aux Maldives de la même façon que nous avons mesuré des teneurs plus élevées dans les otolithes de poissons capturés à l'île de La Réunion. Les quelques individus prélevés sur la côte de Madagascar ne montrent pas de hausse significative du taux de Ba:Ca. Alors que nous avons identifié qu'une percolation d'eau douce à travers le socle basaltique poreux à La Réunion peut être à l'origine de hausse dans la teneur en Ba:Ca dans les otolithes, la géomorphologie actuelle de l'atoll des Maldives et des Iles Eparses de Juan De Nova et d'Europa ne sont pas comparables à celle de La Réunion. Ces atolls peuvent faire l'objet de phénomène d'upwelling qui reste une cause probable d'enrichissement en baryum des otolithes mais aussi peut-être de phénomène de percolation à travers cette fois le socle coralliens des atolls.

Quelles que soient les sources de ces enrichissements en baryum, nous mesurons qu'il existe dans l'océan Indien de l'Ouest des individus de la même espèce qui peuvent présenter des profils microchimiques identiques. Ces profils peuvent être continuellement proches de la valeur de base en Ba:Ca ou peuvent montrer des concentrations fortes à différents moments de la vie de l'individu. Le phénomène que nous avons mesuré à La Réunion n'est donc pas unique.

Ces mesures nous apportent alors de nouvelles pistes de réflexion. Il est établi que l'hypothèse de l'autorecrutement sur l'île de La Réunion soit le scénario le plus courant (Pothin 2005). Cependant, il a été démontré que lors de phénomènes cycloniques, il est possible que des particules inertes puissent être portées par les courants de surface depuis une île voisine à La Réunion, l'île Maurice (Crochelet 2010). Malgré la proximité de l'île, nous n'avons pas pu échantillonner des individus de ce site afin de vérifier

si, tout comme à Europa, Juan De Nova et aux Maldives, certains *E. merra* avaient des signatures chimiques comparables à celles mesurées à La Réunion. L'hypothèse que certains individus puissent provenir d'autres localités reste donc possible, principalement de l'archipel des Mascareignes à en croire Crochelet *et al.* (2013). En quelle proportion ? Avec quelle fréquence ? Ces questions devront être élucidées avant de poursuivre nos interprétations sur la question de la gestion des espèces récifales par la microchimie de l'otolithe à La Réunion.





## CHAPITRE V LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES, UN OUTIL D'AIDE A LA GESTION ?

---

Le maintien des populations de poissons récifaux est très largement dépendant des sources de larves et de leur dispersion dans le milieu pélagique (Cowen & Sponaugle 2009) à la Réunion comme dans d'autres environnements. Les conditions environnementales vécues par les larves au cours de leur dispersion pélagique pourraient avoir un rôle important sur la condition de ces larves puis sur leur survie au stade adulte (Shima & Swearer 2010). Pourtant, cette phase est peu connue car difficile à suivre en continu. Quelques méthodes indirectes (microchimie des otolithes, assignation génétique parentale, modélisation) ont néanmoins permis de définir des tendances. Il est établi aujourd'hui que la dispersion larvaire pélagique est caractérisée par une grande variabilité spatio-temporelle, le recrutement local et le recrutement de larves d'origines plus lointaines pouvant chacun d'eux représenter des proportions importantes dans le renouvellement des stocks au cours du temps (Almany *et al.* 2007; Berumen *et al.* 2010; Christie *et al.* 2010; Berumen *et al.* 2012; Harrison *et al.* 2012; Almany *et al.* 2013).

A la Réunion, peu de travaux se sont intéressés aux origines et à la dispersion des larves de poissons récifaux qui colonisent les quatre entités récifales de la côte ouest de l'île. Les travaux de Pothin (2005) ont suggéré la prépondérance de l'autorecruement dans l'alimentation en post-larves des platiers à la Réunion, mais la variabilité spatio-temporelle dans le recrutement de larves d'origines diverses ainsi que leurs histoires de dispersion n'ont pas été abordées. Améliorer les connaissances de la phase dispersive des larves de poissons récifaux à La Réunion était donc essentiel car elle permet aux récifs coralliens de se repeupler.

Dans ce travail, nous avons vérifié la pertinence de la microchimie des otolithes comme outil pouvant permettre de discriminer des larves d'origine et de dispersion différentes. Puis, nous l'avons appliqué à trois espèces de poissons récifaux (*Epinephelus merra*, *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis*) communément rencontrées sur les platiers de l'île pour évaluer :

- La distribution spatiale de larves d'*Epinephelus merra* caractérisées par une histoire de vie différente à l'échelle des quatre récifs de la Réunion (Chapitre 2),
- La variabilité temporelle de la contribution au recrutement sur le récif de Saint-Gilles et la baie de Saint-Paul de larves d'*Acanthurus triostegus* et de *Plectroglyphidodon imparipennis* caractérisées par des histoires de vie différentes, et cela au cours de deux années (Chapitre 3).

- La proportion de larves d'*Epinephelus merra* caractérisées par une histoire de vie différente lors d'un apport exceptionnel de larves dans la baie de Saint-Paul en relation avec une forte activité cyclonique (Chapitre 4). Nous avons aussi examiné pour cette espèce le rôle de la composition chimique du milieu de vie et de la nourriture sur l'incorporation des éléments Ba, Sr et Mn dans les otolithes.

La première partie de notre étude (chapitre 2) avait un double objectif :

**1) vérifier qu'il existe une hétérogénéité environnementale suffisante (géochimique) à la Réunion pour que des groupes de larves, qui ont vécu dans des environnements différents, puissent être distingués via la composition chimique de leurs otolithes.**

**2) déterminer la structure spatiale de la population d'un mérou (Serranidae, *Epinephelus merra*) grâce à des différences dans l'origine des larves et leur dispersion larvaire.**

Nous avons pour cela utilisé une technique analytique permettant de doser les éléments traces tout le long de la vie larvaire, i.e. des profils géochimiques par couplage ablation laser femtoseconde avec un spectromètre de masse couplé à une torche à plasma (LA-ICP-MS). Grâce à cette approche, nous avons pu ainsi mettre en évidence l'existence de variations temporelles de la composition en éléments traces tels que le baryum, le strontium, le manganèse et le magnésium dans les otolithes d'*Epinephelus merra*. Trois compositions chimiques significativement différenciées ont été identifiées, suggérant l'existence de trois groupes d'individus qui sont nés et se sont développés au stade larvaire dans des environnements différents. Chacun de ces groupes porte une signature chimique propre, majoritairement portée par l'absence ou la présence de baryum ou de strontium et magnésium aux différentes phases de vie (phases maternelle et larvaire). Ces premiers résultats suggèrent l'existence d'hétérogénéités dans les conditions environnementales auxquelles sont soumises les larves autour de l'île de la Réunion, hétérogénéités qui sont archivées de façon permanente dans les otolithes des poissons. La chimie des otolithes, et en particulier le traceur Ba:Ca, présente donc un bon potentiel pour examiner la contribution de différentes origines et histoires de dispersion larvaire d'*Epinephelus merra* ou d'autres espèces à la reconstitution des stocks de poissons récifaux dans les quatre récifs de l'île de la Réunion.

Nous avons ensuite examiné la distribution spatiale des trois groupes d'individus d'*Epinephelus merra* identifiés. Leur proportion varie en général significativement en fonction des sites de capture suggérant un apport différencié de chaque récif. La distribution spatiale des groupes d'individus en fonction de leur site de capture indique une plus grande proportion d'individus dont les otolithes sont appauvris en baryum au nord et ceux enrichis en baryum au sud. A partir de cette distribution spatiale, nous proposons plusieurs hypothèses par rapport à l'origine des larves et leur dispersion en phase larvaire.

- Premier scénario : deux groupes d'individus sont distingués
  - un premier avec un fort Ba:Ca présent au sud (Saint-Pierre) se disperserait au stade larvaire vers le nord, sans atteindre la partie plus au nord de la zone récifale de l'île (Saint-Gilles).
  - un second avec un faible Ba:Ca
    - soit présent au nord et se dispersant vers le sud.
    - soit propre à chacun des 4 secteurs.
- Deuxième scénario, il n'existerait qu'une seule zone productrice de larves, mais avec une très grande variabilité à la fois dans la composition géochimique en baryum de la zone de ponte, et dans les vecteurs de dispersion (distance de dispersion, courants, rétention, ...).

Nous venons de voir dans le chapitre 2 que l'analyse microchimique des otolithes du mérout *Epinephelus merra* à La Réunion nous permettrait de ne plus percevoir l'ensemble de ces individus comme un groupe homogène, mais comme des groupes ayant des parcours de vie différents en fonction de leur localité. Cependant, dans les travaux réalisés avec les juvéniles d'*Epinephelus merra* de l'année, **il n'est pas exclu que les trois groupes différenciés par la composition géochimique des otolithes puissent provenir de plusieurs cohortes espacées dans le temps ou de plusieurs sites de ponte.** Aussi, nous nous sommes demandés **si ce phénomène pouvait se retrouver chez d'autres espèces de poissons récifaux dont l'écologie diffère, et s'il présentait une variabilité temporelle importante au cours des saisons**, d'où la mise en place du programme POLARUN.

A la Réunion la colonisation des récifs frangeants se produit essentiellement à deux périodes de l'année, en hiver (août-septembre) lorsque les eaux sont froides, et en été (décembre-février) lorsque les eaux sont chaudes. Dans le chapitre 3, nous avons examiné au niveau de la zone récifale nord (Saint-Gilles et baie de Saint-Paul) la composition chimique des otolithes de deux autres espèces récifales

coralliennes, le poisson chirurgien *Acanthurus triostegus* (Acanthuridae) et le poisson demoiselle *Plectroglyphidodon imparipennis* (Pomacentridae), dont l'écologie est différente de celle de *E. merra*. L'échantillonnage a été effectué durant deux années consécutives (2011-2013) pendant les périodes hivernales et estivales. Les résultats indiquent que ces deux autres espèces sont caractérisées par des différences de concentrations en baryum, strontium, manganèse et magnésium semblables à celles d'*E. merra*, toute proportion spécifique gardée. **L'hétérogénéité rencontrée dans la composition géochimique des otolithes d'*E. merra* est donc décelée chez plusieurs espèces récifales coralliennes à la Réunion.**

De par la dimension temporelle (recrutement hivernal et estival pendant deux ans) et la localisation des sites d'études (là où seul le groupe caractérisé par de faibles valeurs Ba:Ca dans les otolithes d'*E. merra* était présent), nous avons pu aborder la question de la variabilité temporelle de la dispersion vers le nord d'une source enrichie en Ba:Ca au sud. Nous avons retrouvé sur ces deux espèces *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis* les deux mêmes groupes, Ba:Ca faible / Ba:Ca fort, que ce soit au niveau de l'origine natale que de la phase de dispersion, mais avec une forte variabilité temporelle. En effet, les individus avec peu de baryum dans leurs otolithes étaient présents de façon très prépondérante en saison sèche 2011 et 2012 et en saison des pluies 2011/2012, en accord avec ce qui a été observé pour *E. merra*. Par contre, le groupe avec des teneurs élevées en Ba était très largement représenté en saison des pluies 2012/2013, période pendant laquelle l'île de la Réunion a été soumise à une activité cyclonique plus marquée. Il faut également signaler que les larves qui ont recrutées dans le secteur étudié (Saint-Gilles et baie de Saint-Paul) présentaient des trajectoires multiples de dispersion. En outre, nous avons pu démontrer que les deux groupes de larves naissent à des périodes similaires, suggérant ainsi qu'une très grande variabilité temporelle dans la composition géochimique en Ba de la zone de ponte au cours de la saison de reproduction n'est pas justifiée. L'origine des deux groupes semble donc liée à des secteurs géographiques différents, et l'apport larvaire des récifs nord à des conditions météorologiques particulières. Lors d'événements climatiques exceptionnels, il se produit parfois des arrivées massives de larves d'*E. merra* le long de la côte ouest de l'île de la Réunion (Chabanet *et al.* 2004) sans que l'on ait une idée précise de l'origine de ces larves. L'utilisation de la géochimie des otolithes pourrait permettre d'obtenir quelques réponses, en particulier avec le Ba:Ca dont on a vu qu'il est potentiellement discriminant des origines et couloirs de migration larvaire autour de l'île de la Réunion. **Nous avons donc pu vérifier qu'il existe une variabilité temporelle importante dans les origines et trajectoires de dispersion de ces deux espèces dans la zone récifale nord. Cette variabilité n'est pas liée directement à l'alternance entre la saison sèche et la saison des pluies, mais à des conditions climatiques plus marquées en saison des pluies**

en relation avec l'activité cyclonique dans cette région de l'océan Indien. Nous avons également démontré que les groupes différenciés par leur composition en Ba:Ca provenaient de lieux différents. Ces phénomènes exceptionnels favoriseraient donc l'apport de larves enrichies en Ba:Ca dont l'origine pourrait être localisée plus au sud.

Il semble maintenant établi qu'il existe une ou plusieurs sources autour de l'île qui génèrent un enrichissement en Ba:Ca des otolithes de larves de poissons récifaux. **Il nous reste alors à élucider l'origine de ces sources. Pour cela, nous avons testé l'effet sur la composition des otolithes d'une source d'eau locale naturellement enrichie en baryum qui alimente un réseau d'aquarium dans lesquels ont été élevés de jeunes *E. merra* récoltés lors d'un recrutement exceptionnel en saison cyclonique.**

Dans le chapitre 4, partie I, nous avons cherché à déterminer à quel groupe géochimique appartenaient ces larves et à établir des liens entre chimie de l'otolithe et chimie de l'environnement. Pour cela, nous avons pu travailler sur ces larves prélevées en baie de Saint-Paul suite à un recrutement massif en relation avec une forte activité cyclonique. Ces larves ont été capturées et élevées en conditions contrôlées dans un centre d'aquariologie utilisant de l'eau de mer captée par un forage situé à proximité des côtes, à la Pointe des Galets, dans la ville du Port. L'eau s'est révélée être constamment naturellement enrichie en baryum pendant la durée de l'expérience comparée à une eau directement prélevée en mer.

La composition géochimique de la portion des otolithes de la vie larvaire des *E. merra* permet de montrer qu'il s'agissait en totalité de larves appartenant au groupe appauvri en Ba:Ca. On ne retrouve donc pas, comme pour les deux espèces *Acanthurus triostegus* et *Plectroglyphidodon imparipennis*, un apport de larves enrichies en Ba:Ca lors d'évènements cycloniques. **Ceci suggère que, pour *E. merra*, les zones sources riches en Ba:Ca pourraient être associées à des secteurs géographiques différents de ceux de *A. triostegus* et *P. imparipennis* ou que les conditions de dispersion étaient différentes entre la saison des pluies 2008/2009 et celle de 2012/2013.**

Au cours de la période d'incubation des larves dans les aquariums, dont les eaux étaient naturellement enrichies en Ba:Ca, les otolithes ont tous montré un enrichissement en baryum, l'eau en étant probablement le contributeur majoritaire. Cet enrichissement se situe dans la gamme basse de ceux mesurés dans les otolithes d'*E. merra* de 2007 (chapitre 2) enrichis en Ba:Ca. Cette comparaison suggère que l'enrichissement provient des aquifères côtiers enrichis en baryum. **Ainsi, nous**

**montrons qu'à La Réunion, des sources d'eaux naturellement enrichies en baryum à proximité des côtes peuvent influencer directement la composition des otolithes de poissons récifaux. C'est ce que suggèrent également les signaux forts de baryum mesurés vers la fin de la phase larvaire chez les *A. triostegus* et *P. imparipennis* in situ.**

Dans la seconde partie du chapitre 4, **nous avons regardé à une échelle plus large (régionale) si le marqueur Ba:Ca était retrouvé dans les otolithes d'*E. merra* capturés dans d'autres sites de l'océan Indien de l'Ouest.** Pour cela, des échantillons d'*E. merra* en provenance de la côte Est de Madagascar, des atolls des Maldives et des lagons des Iles Eparses ont été analysés. Plusieurs individus capturés sur ces sites portent des traces de baryum, parfois en quantité moindre que celles mesurées sur les individus de La Réunion (Madagascar), parfois avec autant d'intensité (Iles Eparses et Maldives). Cela signifie que l'enrichissement des otolithes en Ba:Ca n'est pas un cas spécifique de l'île de la Réunion.

**Pour conclure, le baryum est donc un élément qui peut permettre de caractériser différents groupes d'individus à l'échelle d'une île volcanique comme la Réunion, mais aussi dans l'océan Indien.**

Une des sources les plus probables permettant d'expliquer ces enrichissements ponctuels semble être celle des apports naturels par percolation d'eaux souterraines enrichies en baryum dans les sols basaltique, comme nous avons pu l'observer au niveau d'une résurgence dans le platier d'Etang-Salé. Les phénomènes de ruissellement peuvent également participer à un enrichissement ponctuel des eaux côtières, notamment lors des saisons des pluies où les fortes précipitations (records mondiaux de pluviométrie enregistrés sur l'île) sont rapidement acheminées des bassins versant dans les ravines jusqu'au littoral. Il n'est également pas à exclure que des phénomènes d'upwelling peuvent avoir un rôle à jouer (Patterson *et al.* 2004b; Clarke *et al.* 2007c), mais aucune information n'est actuellement disponible à la Réunion sur l'existence d'un tel type de processus. Ces facteurs permettent en partie d'interpréter les différences observées sur les autres sites d'étude de la région de l'océan Indien. En effet, les atolls et îles coralliennes comme les Maldives ont un socle calcaire formé par du corail et ne constituent pas par nature, des réservoirs d'eau douce aussi importants. Ce qui n'est pas le cas à La Réunion, où le socle basaltique poreux entraîne une infiltration plus rapide des eaux de pluies, tout en permettant une percolation lente et régulière dans le biseau salé, zone de mélange entre l'eau douce et l'eau marine. Dans d'autres localités aux histoires géologiques différentes comme à Madagascar, ces phénomènes peuvent exister dans des proportions moindres et ainsi impacter différemment la chimie

marine des eaux récifales dans lesquelles évoluent les poissons coralliens au stade juvénile et adulte lors de leur phase benthique.

A la lumière de ces résultats et de l'effet réserve observé dans les secteurs à protection renforcée de la réserve marine de La Réunion sur les populations d'*E. merra* (Bigot *et al.* 2014), des perspectives de recherche appliquées à la gestion des ressources peuvent être proposées à différentes échelles. A La Réunion, les populations de poissons ne doivent donc pas être envisagées comme un ensemble homogène de gestion mais comme des « sous populations » à gérer localement. A l'échelle des Mascareignes, les événements cycloniques favorisent la connectivité entre les populations ichtyologiques de l'archipel. La proportion entre auto-recrutement et allo-recrutement reste à déterminer afin d'entamer une gestion régionale pour la préservation des espèces.

Afin de mieux cerner ces questions, il serait nécessaire de :

- Poursuivre l'effort d'échantillonnage des otolithes d'espèces cibles dans Les Mascareignes pour mieux comprendre les connectivités des îles de l'archipel et de standardiser les analyses microchimiques des otolithes afin d'en réduire le coût.
- Mener une campagne d'analyse chimique des eaux côtières à La Réunion et à l'échelle des Mascareignes, ceci pouvant se faire en travaillant en réseau avec les différentes équipes et services qui analysent déjà régulièrement les eaux côtières mais sur des paramètres différents.
- Approfondir les connaissances sur la biologie des espèces (âge de maturité sexuelle, sites de reproduction...) afin de mieux cerner la dynamique des populations.
- Associer l'analyse génétique fine des populations d'espèces cibles sur plusieurs générations afin de caractériser les flux génétiques au sein d'une localité ou d'une région.

Ces différents points mis en avant nécessitent des coopérations fortes aussi bien à l'échelle locale que régionale, et une mutualisation des moyens. L'analyse microchimique des otolithes de poissons récifaux est un outil qui gagnera au cours du temps en précision, ce qui lui permettra d'augmenter la visibilité de la « boîte noire » et de devenir un outil de précision pour « faire parler » les poissons.





## RÉFÉRENCES

- Alibert C., Kinsley L., Fallon S.J., McCulloch M.T., Berkelmans R. & McAllister F. (2003). Source of trace element variability in Great Barrier Reef corals affected by the Burdekin flood plumes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67, 231-246.
- Allen G.R. (1986). Pomacentridae. In: *Smiths' sea fishes* (ed. Heemstra MMSaPC). Springer-Verlag, pp. 670-682.
- Almany G.R., Berumen M.L., Thorrold S.R., Planes S. & Jones G.P. (2007). Local replenishment of coral reef fish populations in marine reserve. *Science*, 316, 742-744.
- Almany Glenn R., Hamilton Richard J., Bode M., Matawai M., Potuku T., Saenz-Agudelo P., Planes S., Berumen Michael L., Rhodes Kevin L., Thorrold Simon R., Russ Garry R. & Jones Geoffrey P. (2013). Dispersal of grouper larvae drives local resource sharing in a coral reef fishery. *Current Biology*, 23, 626-630.
- Arai T., Limbong D. & Tsukamoto K. (2000). Validation of otolith daily increments in the tropical eel *Anguilla celebesensis*. *Canadian Journal of Zoology*, 78, 1078-1084.
- Arneri E., Colella S. & Giannetti G. (2001). Age determination and growth of turbot and brill in the Adriatic Sea: Reversal of the seasonal pattern of otolith zone formation. *Journal of Applied Ichthyology*, 17, 256-261.
- Bado P., Clark W. & Said A. (2006). Femtosecond Lasers Micromachining Handbook. In: *Micromachining handbook*, p. 38.
- Barats A., Pecheyran C., Amouroux D., Dubascoux S., Chauvaud L. & Donard O.F.X. (2007). Matrix-matched quantitative analysis of trace-elements in calcium carbonate shells by laser-ablation ICP-MS: application to the determination of daily scale profiles in scallop shell (*Pecten maximus*). *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 1131-40.
- Barcelo A., Robert R. & Coudray J. (1997). A Major Rainfall Event: The 27 February–5 March 1993 Rains on the Southeastern Slope of Piton de la Fournaise Massif (Reunion Island, Southwest Indian Ocean). *Monthly Weather Review*, 125, 3341-3346.
- Bartlett M.S. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London Series A*, 160, 268-282.
- Bath G.E., Thorrold S.R., Jones C.M., Campana S.E., McLaren J.W. & Lam J.W.H. (2000). Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64, 1705-1714.
- Bath Martin G. & Thorrold S.R. (2005). Temperature and salinity effects on magnesium, manganese, and barium incorporation in otoliths of larval and early juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *Marine Ecology Progress Series*, 293, 223–232.
- Bauer D.F. (1972). Constructing confidence sets using rank statistics. *Journal of the American Statistical Association*, 67, 687-690.
- Begg G.A. & Brown R.W. (2000). Stock Identification of Haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank Based on Otolith Shape Analysis. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129, 935-945.
- Bellot-Gurlet L. (1998). Caractérisation par analyse élémentaire (PIXE et ICP-MS/-AES) d'un verre naturel: l'obsidienne. Application à l'étude de provenance d'objet géologique. p. 298.
- Ben-Tzvi O., Kiflawi M., Gaines S.D., Al-Zibdah M., Sheehy M.S., Paradis G.L. & Abelson A. (2008). Tracking recruitment pathways of *Chromis viridis* in the Gulf of Aqaba using otolith chemistry. *Marine Ecology Progress Series*, 359, 229-238.
- Bergenius M.A.J., Begg G.A. & Mapstone B.D. (2005a). The use of otolith morphology to indicate the stock of common coral trout (*Plectropomus leopardus*) on the Great Barrier Reef, Australia. *Fishery Bulletin*, 104, 498-511.

- Bergenius M.A.J., McCormick M.I., Meekan M.G. & Robertson D.R. (2005b). Environmental influences on larval duration, growth and magnitude of settlement of a coral reef fish. *Marine Biology*, 147, 291-300.
- Berumen M.L., Almany G.R., Planes S., Jones G.P., Saenz-Agudelo P. & Thorrold S.R. (2012). Persistence of self-recruitment and patterns of larval connectivity in a marine protected area network. *Ecology and Evolution*, 2, 444-452.
- Berumen M.L., Walsh H.J., Raventos N., Planes S., Jones G.P., Starczak V. & Thorrold S.R. (2010). Otolith geochemistry does not reflect dispersal history of clownfish larvae. *Coral Reefs*, 29, 883-891.
- Bhandari R.K., Alam M.A., Higa M., Soyano K. & Nakamura M. (2005). Evidence that estrogen regulates the sex change of Honeycomb Grouper (*Epinephelus merra*), a protogynous hermaphrodite fish. *Journal of Experimental Zoology*, 303, 497-503.
- Bhandari R.K., Alam M.A., Soyano K. & Nakamura M. (2006). Induction of female-to-male sex change in the Honeycomb Grouper (*Epinephelus merra*) by 11-ketotestosterone treatments. *Zoological Science*, 23, 65-69.
- Bhandari R.K., Komuro H., Nakamura S., Higa M. & Nakamura M. (2003). Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in protogynous Honeycomb Grouper (*Epinephelus merra*). *Zoological Science*, 20, 1399-1404.
- Bigot L., Bruggemann J.H., Cadet C., Chabanet P., Durville P., Guillaume M., Hoareau L., Mulochau T. & Penin L. (2014). Point 1 du suivi de l'effet réserve sur les communautés ichtyologiques et benthiques récales - secteurs de La Saline et de Saint-Leu. In: Rapport ECOMAR, IRD, MNHN, p. 52.
- Bourjea J., Evano H. & Muths D. (2012). CAMP - Connectivité des aires marines protégées. In: (ed. Ifremer) La Réunion, p. 228.
- Breder C.M. & Rosen D.E. (1996). Modes of reproduction in fishes. T.F.H. Publications, Neptune City, New Jersey.
- BRGM (2006). La dynamique du littoral de La Réunion. In: Kit pédagogique Science de la Terre La Réunion (ed. BRGM). BRGM.
- Brophy D., Jeffries T.E. & Danilowicz B.S. (2004). Elevated manganese concentrations at the cores of clupeid otoliths: possible environmental, physiological, or structural origins. *Marine Biology*, 144, 779-786.
- Brown R.J. & Severin K.P. (2009). Otolith chemistry analyses indicate that water SR:Ca is the primary factor influencing otolith Sr:Ca for freshwater and diadromous fish but not for marine fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66, 1790-1808.
- Burgess S.C., Treml E.A. & Marshall D.J. (2012). How do dispersal costs and habitat selection influence realized population connectivity? *Ecology*, 93, 1378-1387.
- Caley M.J., Carr M.H., Hixon M.A., Hughes T.P., Jones G.P. & Menge B.A. (1996). Recruitment and the Local Dynamics of Open Marine Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 477-500.
- Campana S.E. (1983). Feeding periodicity and daily growth increments in otoliths of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Canadian Journal of Zoology*, 61, 1591-1597.
- Campana S.E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263-297.
- Campana S.E. (2005a). Otolith science entering the 21st century. *Marine and Freshwater Research*, 56, 485-495.
- Campana S.E. (2005b). Otolith science entering 21st century. *Marine and Freshwater Research*, 56, 485-495.

- Campana S.E., Chouinard G.A., Hanson J.M. & Fréchet A. (1999a). Mixing and migration of overwintering Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks near the mouth of the Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences*, 56, 1873-1881.
- Campana S.E., Chouinard G.A., Hanson J.M. & Fréchet A. (1999b). Mixing and migration of overwintering Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks near the mouth of the Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56, 1873-1881.
- Campana S.E., Chouinard G.A., Hanson J.M., Fréchet A. & Bratley J. (2000). Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. *Fisheries Research*, 46, 343-357.
- Campana S.E., Gagne J.A. & Munro J. (1987). Otolith microstructure of larval herring *Clupea harengus*: image or reality? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44, 1922-1929.
- Campana S.E. & Neilson J.D. (1985). Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42, 1014-1032.
- Campana S.E. & Thorrold S.R. (2001). Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 30-38.
- Campana S.E., Thorrold S.R., Jones C.M., Günther D., Tubrett M., Longerich H., Jackson S., Halden N.M., Kalish J.M., Piccoli P., Pontual H.d., Troadec H., Panfili J., Secor D.H., Severin K.P., Sie S.H., Thresher R., Teesdale W.J. & Campbell J.L. (1997). Comparison of accuracy, precision, and sensitivity in elemental assays of fish otoliths using the electron microprobe, proton-induced X-ray emission, and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences*, 54, 2068-2079.
- Chabanet P., Bigot L., Naim O., Garnier R. & Moyne-Picard M. (2002). Coral reef monitoring at Reunion island (Western Indian Ocean). *Proc 9th International Coral Reef Symposium*, 2, 873-878.
- Chabanet P., Bigot L., Nicet J.B., Durville P., Massé L., Mulochau T., Russo C., Tessier E. & Obura D.O. (2015). Coral reef monitoring in the Iles Eparses, Mozambique Channel (2011-2013). *Acta Oecologica*, In press.
- Chabanet P., Pothin K. & Moyne-Picard M. (2004). Cyclone as mass-settlement vehicles for groupers. *Coral Reefs*, 24, 138.
- Chittaro P.M., Fryer B.J. & Sale P.F. (2004). Discrimination of French grunts (*Haemulon flavolineatum*, Desmarest, 1823) from mangrove and coral reef habitats using otolith microchemistry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 308, 169-183.
- Christie M.R., Tissot B.N., Beets J.P., Jia Y., Ortiz D.M., Thompson S.E. & Hixon M.A. (2010). Larval Connectivity in an Effective Network of Marine Protected Areas. *PloS one*, 5, 1-8.
- Clarke A.D., Lewis A., Telmer K.H. & Shrimpton J.M. (2007a). Life history and age at maturity of an anadromous smelt, the eulachon *Thaleichthys pacificus* (Richardson). *Journal of Fish Biology*, 71, 1479-1493.
- Clarke A.D., Telmer K.H. & Mark Shrimpton J. (2007b). Elemental analysis of otoliths, fin rays and scales: a comparison of bony structures to provide population and life-history information for the Arctic grayling (*Thymallus arcticus*). *Ecology of Freshwater Fish*, 16, 354-361.
- Clarke A.D., Telmer K.H. & Shrimpton J.M. (2007c). Habitat use and movement patterns for a fluvial species, the Arctic grayling, in a watershed impacted by a large reservoir: evidence from otolith microchemistry. *Journal of Applied Ecology*, 44, 1156-1165.
- Claverie F., Fernandez B., Pecheyran C., Alexis J. & Donard O.F.X. (2009). Elemental fractionation effects in high repetition rate IR femtosecond laser ablation ICP-MS analysis of glasses. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24, 891-902.
- Coffey M., Dehairs F., Collette O., Luther G., Church T. & Jickells T. (1997). The Behaviour of Dissolved Barium in Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 45, 113-121.
- Colbert D. & McManus J. (2005). Importance of seasonal variability and coastal processes on estuarine manganese and barium cycling in a Pacific Northwest estuary. *Continental Shelf Research*, 25, 1395-1414.

- Collingsworth P.D., Van Tassell J.J., Olesik J.W. & Marschall E.A. (2010). Effects of temperature and elemental concentration on the chemical composition of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 67, 1187-1196.
- Cook G.S. (2011). Changes in otolith microchemistry over a protracted spawning season influence assignment of natal origin. *Marine Ecology Progress Series*, 423, 197-209.
- Correia A.T., Pipa T., Goncalves J.M.S., Erzini K. & Hamer P.A. (2011). Insights into population structure of *Diplodus vulgaris* along the SW Portuguese coast from otolith elemental signatures. *Fisheries Research*, 111, 82-91.
- Cowen R.K. & Sponaugle S. (2009). Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Sciences*, 1.
- Crochelet E. (2010). Caractérisation des conditions de transport des larves de poissons récifaux. Approche par analyse spatiale et produits de la télédétection autour de La Réunion. In: (eds. Chabanet P & Petit M). *Sup'Agro Montpellier*, p. 67.
- Crochelet E., Chabanet P., Pothin K., Lagabrielle E., Roberts J., Pennober G., Lecomte-Finiger R. & Petit M. (2013). Validation of a fish larvae dispersal model with otolith data in the Western Indian Ocean and implications for marine spatial planning in data-poor regions. *Ocean & Coastal Management*, 86, 13-21.
- Cuet P., Naim O., Faure G. & Conan J.Y. (1988). Nutrient-rich groundwater impact on benthic communities of La Saline fringing reef (Reunion Island, Indian Ocean): preliminary results. In: *Proc. 6th Int. Coral Reef Symp.*, pp. 207-212.
- De Casamajor M.-N., Lecomte-Finiger R. & Prouzet P. (2001). Passé larvaire des civelles, *Anguilla anguilla* (Linné, 1758) en migration en zones côtière et estuarienne (Adour, golfe de Gascogne) à partir de l'examen des otolithes. *Life Sciences*, 324, 1011-1019.
- De Pontual H., Lagardère F., Amara R., Bohn M. & Ogor A. (2003). Influence of ontogenetic and environmental changes in the otolith microchemistry of juvenile sole (*Solea solea*). *Journal of Sea Research*, 50, 199-210.
- De Vries M.C., Gillanders B.M. & Elsdon T.S. (2005). Facilitation of barium uptake into fish otoliths: Influence of strontium concentration and salinity. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69, 4061-4072.
- Degens E.T., Deuser W.G. & Haedrich R.L. (1969). Molecular structure and composition of fish otoliths. *Int. J. Life Oceans Coastal Waters*, 2, 105-113.
- DiBacco C. & Levin L.A. (2000). Development and application of elemental fingerprinting to track the dispersal of marine invertebrate larvae. *Limnology and Oceanography*, 45, 871-880.
- Doherty P.J. & McIlwain J.L. (1996). Monitoring Larval Fluxes through the Surf Zones of Australian Coral Reefs. *Marine and Freshwater Research*, 47, 383-390.
- Doherty P.J. & Williams D.M. (1988). The replenishment of coral reef fish populations. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 26, 487-551.
- Doherty P.J., Williams D.M. & Sale P.F. (1985). The adaptive significance of larval dispersal in coral-reef fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 12, 81-90.
- Domeier M.L. & Colin P.L. (1997). Tropical reef fish spawning aggregations: Defined and reviewed. *Bulletin of Marine Science*, 60, 698-726.
- Dorval E., Jones C.M., Hannigan R. & Montfrans J.v. (2007). Relating otolith chemistry to surface water chemistry in a coastal plain estuary. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64, 411-424.
- Dufour V. (1992). Colonization of coral reefs by fish larvae. In: *Ecology*. Université de Paris 06 Paris, p. 223.
- Dufour V. & Galzin R. (1993). Colonization patterns of reef fish larvae to the lagoon at Moorea Island, French Polynesia. *Marine Ecology Progress Series*, 102, 143-143.

- Dufour V., Jouvenel J.-Y. & Galzin R. (1995). Study of a Mediterranean fish assemblage. Comparisons of population distributions between depths on protected and unprotected areas over one decade. *Aquatic Living Resources*, 8, 17-25.
- Dunkelberger D.G., Dean J.M. & Watabe N. (1980). The ultrastructure of the otolithic membrane and otolith in the juvenile mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Morphology*, 163, 367-377.
- Durville P. (2002). Colonisation ichtyologique des platiers de La Réunion et biologie des post-larves de poissons coralliens. In: Thèse du Laboratoire d'Ecologie Marine. Université de La Réunion Saint-Denis, p. 146.
- Edmonds J.S., Steckis R.A., Moran M.J., Caputi N. & Morita M. (1999). Stock delineation of pink snapper and tailor from Western Australia by analysis of stable isotope and strontium/calcium ratios in otolith carbonate. *Journal of Fish Biology*, 55, 243-259.
- Eggins S.M., Kinsley L.P.J. & Shelley J.M.G. (1998). Deposition and element fractionation processes during atmospheric pressure laser sampling for analysis by ICP-MS. *Applied Surface Science*, 127-129, 278-286.
- Elsdon T.S. & Gillanders B.M. (2002). Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenge for determining environmental histories of fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 1796-1808.
- Elsdon T.S. & Gillanders B.M. (2003). Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 13, 219-235.
- Elsdon T.S. & Gillanders B.M. (2005). Strontium incorporation into calcified structures: separating the effects of ambient water concentration and exposure time. *Marine Ecology Progress Series*, 285, 233-243.
- Farrell J. & Campana S.E. (1996). Regulation of Calcium and Strontium Deposition on the Otoliths of Juvenile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 115A, 103-109.
- Fay R.R. (1980). The goldfish ear codes the axis of acoustic particle motion in three dimension. *Science*, 225, 951-963.
- Fisher R. (2005). Swimming speeds of larval coral reef fishes: impacts on self-recruitment and dispersal. *Marine Ecology Progress Series*, 285, 223-232.
- Fleury P.-G., Cadet C., Turban S. & Bonniec S.L. (2012). Suivi des pêches à pied traditionnelles et de la chasse sous-marine de 2008 à 2011 dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion. In: (ed. Ifremer). Ifremer La Réunion, p. 85.
- Fortier L. & Leggett W.C. (1983). Vertical Migrations and Transport of Larval Fish in a Partially Mixed Estuary. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40, 1543-1555.
- Friedrich L.A. & Halden N.M. (2011). Determining exposure history of northern pike and walleye to tailings effluence using trace metal uptake in otoliths. *Environmental Science and Technology*, 44, 1551-1558.
- Gallahar N.K. & Kingsford M.J. (1996). Factors influencing Sr/Ca ratios in otoliths of *Girella elevata*: an experimental investigation. *Journal of Fish Biology*, 48, 174-186.
- Gamberoni L., Geronimi J. & Murail J. (1984). Structure hydrologique aux abords immédiats de l'île de La Réunion en période hivernale (août.-sept. 1982). *Comm. Natl. Fr. Rech. Antarct*, 55, 41-47.
- Garcia C.C., Lindner H. & Niemax K. (2007). Transport efficiency in femtosecond laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry applying ablation cells with short and long washout times. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 62, 13-19.
- Gauldie R.W. (1990a). Phase differences between check ring locations in the orange roughy otolith. *Canadian Journal Fishery Aquatic Science*, 47, 760-765.
- Gauldie R.W. (1990b). Vaterite otoliths in opah and two species of sunfish. *Acta. Zool. Stockh.*, 71, 193-199.



- Gauldie R.W. (1993a). The relationship of the ion content of some fish otoliths to temperature. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66A, 19-24.
- Gauldie R.W. (1993b). The relationship of the ion content of some fish otoliths to temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 66A, 19-24.
- Gillanders B.M. (2002a). Connectivity between juvenile and adult fish populations: Do adults remain near their recruitment estuaries? *Marine Ecology Progress Series*, 240, 215-223.
- Gillanders B.M. (2002b). Temporal and spatial variability in elemental composition of otoliths: implications for determining stock identity and connectivity of populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 669-679.
- Gillanders B.M. & Kingsford M.J. (1996). Elements in otoliths may elucidate the contribution of estuarine recruitment to sustaining coastal reef populations of a temperate reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 141, 13-20.
- Gillanders B.M. & Kingsford M.J. (2003). Spatial variation in elemental composition of otoliths of three species of fish (family Sparidae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57, 1049-1064.
- Gonneea M.E., Mulligan A.E. & Charette M.A. (2013). Seasonal cycles in radium and barium within a subterranean estuary: Implications for groundwater derived chemical fluxes to surface waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 119, 164-177.
- Guyomard D., Petit M., Desruisseaux M., Stretta J.M. & Gardel L. (2006). Hydroclimat du sud-ouest de l'océan Indien et océanographie spatiale. In: *Halieutique et environnement océanique: le cas de la pêche palangrière à l'espadon depuis l'île de La Réunion* (eds. Petit M & Huynh F). IRD Paris, pp. 39-65.
- Halden N.M. & Friedrich L.A. (2008). Trace-element distributions in fish otoliths: Natural markers of life histories, environmental conditions and exposure to tailings effluence. *Mineralogical Magazine*, 72, 593-605.
- Hamer P.A. & Jenkins G.P. (2007). Comparison of spatial variation in otolith chemistry of two fish species and relationships with water chemistry and otolith growth. *Journal of Fish Biology*, 71, 1035-1055.
- Hamer P.A., Jenkins G.P. & Coutin P. (2006). Barium variation in *Pagrus auratus* (Sparidae) otoliths: A potential indicator of migration between an embayment and ocean waters in south-eastern Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68, 686-702.
- Hamer P.A., Jenkins G.P. & Gillanders B.M. (2003). Otolith chemistry of juvenile snapper *Pagrus auratus* in Victorian waters: natural chemical tags and their temporal variation. *Marine Ecology Progress Series*, 263, 261-273.
- Hamilton S.L. & Warner R.R. (2009). Otolith barium profiles verify the timing of settlement in a coral reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 385, 237-244.
- Hanson P.J. & Zdanowicz V.S. (1997). Elemental composition of fish otoliths and contaminant levels along an estuarine pollution gradient. *Journal of Fish Biology*, 54, 656-668.
- Harmelin-Vivien M.L. & Bouchon C. (1976). Feeding behaviour of some carnivorous fishes (Serranidae and Scorpaenidae) from Tuléar (Madagascar). *Marine Biology*, 37, 329-340.
- Harrison Hugo B., Williamson David H., Evans Richard D., Almany Glenn R., Thorrold Simon R., Russ Garry R., Feldheim Kevin A., van Herwerden L., Planes S., Srinivasan M., Berumen Michael L. & Jones Geoffrey P. (2012). Larval Export from Marine Reserves and the Recruitment Benefit for Fish and Fisheries. *Current Biology*, 22, 1023-1028.
- Heemstra P.C. & Randall J.E. (1993). FAO species catalogue. Vol. 16. In: *Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date.*
- Hixon M.A. (1991). Predation as a process structuring coral reef fish communities. In: *The Ecology of Fiches on Coral Reefs* (ed. Sale P). Academic Press, Inc. San Diego, CA, pp. 475-508.
- Hollander M. & Wolfe D.A. (1973). Nonparametric Statistical Methods. In: (ed. Sons JW) New York, pp. Pages 27–33 (one-sample), 68–75 (two-sample).

- Holt R.D. (1987). Prey communities in patchy environments. *Oikos*, 276-290.
- Huszank R., Simon A., Szilagyi E., Keresztessy K. & Kovacs I. (2009). Micro-ERDA, micro-RBS and micro-PIXE techniques in the investigation of fish otoliths. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 267, 2132-2135.
- Izzo C., Doubleday Z.A. & Gillanders B.M. (2015). Where do elements bind within the otoliths of fish? *Marine and Freshwater Research*.
- Jagadis I., Ignatius B., Kandasami D. & Khan M.A. (2006). Embryonic and larval development of honeycomb grouper *Epinephelus merra* Bloch. *Aquaculture Research*, 37, 1140-1145.
- Join J.-L., Pomme J.B., Coudray J. & Daessle M. (1988). Caractérisation des aquifères basaltiques en domaine littoral. Impact d'un récif corallien. *Hydrogéologie*, 2, 107-115.
- Jones C.M. & Chen Z. (2003). New techniques for sampling larval and juvenile fish otoliths for trace-element analysis with laser-ablation sector-field inductively-coupled plasma mass spectrometry (SF-ICP-MS). In: 26th Annual Larval Fish Conference (eds. Browman HI & Skiftesvik AB). Institute of Marine Research, p. 13.
- Jones G.P., Almany G.R., Russ G.R., Sale P.F., Steneck R.S., Van Oppen M.J.H. & Willis B.L. (2009). Larval retention and connectivity among populations of corals reef fishes: history, advances and challenges. *Coral Reefs*, 28, 307-325.
- Jones G.P., Milicich M.J., Emslie M.J. & Lunow C. (1999). Self-recruitment in a coral reef fish population. *Nature*, 402, 802-804.
- Jones G.P., Planes S. & Thorrold S.R. (2005). Coral reef fish larvae settle close to home. *Current Biology*, 15, 1314-1318.
- Kalish J.M. (1989). Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and environment on otolith composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 132, 151-178.
- Kalish J.M. (1991). Determinants of otolith chemistry: Seasonal variation in the composition of blood plasma, endolymph and otoliths of bearded rock cod *Pseudophycis barbatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 74, 137-159.
- Kalish J.M. (1993). Fish otolith chemistry. *Science*, 260, 279.
- Kingsford M.J., Hughes J.M. & Patterson H.M. (2009). Otolith chemistry of the non-dispersing reef fish *Acanthochromis polyacanthus*: cross-shelf patterns from the central Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress Series*, 377, 279-288.
- Kingsford M.J., Leis J.M., Shanks A., Lindeman K.C., Morgan S.G. & Pineda J. (2002). Sensory environments, larval abilities and local self-recruitment. *Bulletin of Marine Science*, 70, 309-340.
- Koch J., Walle M., Schlamp S., Rosgen T. & Gunther D. (2008). Expansion phenomena of aerosols generated by laser ablation under helium and argon atmosphere. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63, 37-41.
- Krupp F. (1995). Acanthuridae. Sangrados, cirujanos, navajones. In: Guia FAO para Identificación de Especies para lo Fines de la Pesca (eds. Fischer W, Krupp F, Schneider W, Sommer C, Carpenter KE & Niem V). Pacifico Centro-Oriental Rome, pp. 839-844.
- Le Harzic R., Houot N., Audouard E., Jonin C., Laporte P., Valette S., Fraczkiewicz A. & Fortunier R. (2002). Comparison of heat-affected zones due to nanosecond and femtosecond laser pulses using transmission electronic microscopy. *Applied Physics Letters*, 80, 3886-3888.
- Lea D.W., Shen G.T. & Boyle E.A. (1989). Coralline barium records temporal variability in equatorial Pacific upwelling. *Nature*, 340, 373-376.
- Lecomte-Finiger R. (1992). Growth history and age at recruitment of european glass eels *A. anguilla* as revealed by otolith microstructure. *Marine Biology*, 114, 205-210.
- Lecomte-Finiger R. (1999). L'otolithe : la "boîte noire" des Téléostéens. *Année biologie*, 38, 107-122.
- Lee Y.D., Parks S.H., Takemura A. & Takano K. (2002). Histological observations of seasonal reproductive and lunar-related spawning cycles in the female Honeycomb Grouper *Epinephelus merra* in Okinawan waters. *Fisheries Sciences*, 68, 872-877.



- Leis J.M. (1987). Review of the early life history groupers (Serranidae) and snappers (Lutjanidae). In: Tropical Snapper and Groupers: Biology and Fisheries management (ed. Westview). Boulder Colorado.
- Leis J.M. (2002). Pacific Coral-reef Fishes: The Implications of Behaviour and Ecology of Larvae for Biodiversity and Conservation, and a Reassessment of the Open Population Paradigm. *Environmental Biology of Fishes*, 65, 199-208.
- Letourneur Y., Chabanet P., Vigliola L. & Harmelin-Vivien M.L. (1998). Mass settlement and post-settlement mortality of *Epinephelus merra* (Pisces: Serranidae) on Reunion coral reefs. *Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78, 307-319.
- Li Y.H. & Chan L.H. (1979). Desorption of Ba and <sup>226</sup>Ra from river-borne sediments in the Hudson estuary. *Earth and Planetary Science Letters*, 43, 343-350.
- Lieske E. & Myers R.F. (2005). Guide des poissons des récifs coralliens, Région Caraïbe, océan Indien, océan Pacifique, mer Rouge. Delachaux et Niestlé edn, Paris.
- Limburg K.E. (1995). Otolith strontium traces environmental history of subyearling American shad *Alosa sapidissima*. *Marine Ecology Progress Series*, 119, 25-35.
- Limburg K.E., Olson C., Walther Y., Dale D., Slomp C.P. & Hoie H. (2011). Tracking Baltic hypoxia and cod migration over millennia with natural tags. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, E177–E182.
- Lin I.-T., Wang C.-H., You C.-F., Lin S., Huang K.-F. & Chen Y.-G. (2010). Deep submarine groundwater discharge indicated by tracers of oxygen, strontium isotopes and barium content in the Pingtung coastal zone, southern Taiwan. *Marine Chemistry*, 122.
- Lo-Yat A. (2002). Variabilité temporelle de la colonisation par les larves de poissons de l'atoll de Rangiroa (Tuamotu, Polynésie Française) et utilisation de l'outil otolithe de ces larves. In: *Ichtyologie marine*. Université de la Polynésie Française, p. 256.
- Lobel P.S. (1997). Comparative settlement age of Damselfish larvae (*Plectroglyphidodon imparipennis*, Pomacentridae) from Hawaii and Johnston atoll. *Biol. Bull.*, 193, 281-283.
- Lochet A., Jatteau P. & Gessner J. (2011). Detection of chemical marks for stocking purposes in sturgeon species. *Journal of Applied Ichthyology*, 27, 444-449.
- Loher T., Wischniowski S. & Martin G.B. (2008). Elemental chemistry of left and right sagittal otoliths in a marine fish *Hippoglossus stenolepis* displaying cranial asymmetry. *Journal of Fish Biology*, 73, 870-887.
- Marohn L., Prigge E., Zumholz K., Klügel A., Anders H. & Hanel R. (2009). Dietary effects on multi-element composition of European eel (*Anguilla anguilla*) otoliths. *Marine Biology*, 156, 927-933.
- Martin G.B. & Thorrold S.R. (2005). Temperature and salinity effects on magnesium, manganese and barium incorporation in otoliths of larval and early juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *Marine Ecology Progress Series*, 293, 223-232.
- Martin G.B., Thorrold S.R. & Jones C.M. (2004). Temperature and salinity effects on strontium incorporation in otoliths of larval spot (*Leiostomus xanthurus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61, 34-42.
- Martin J. (2013). Développement de la microchimie élémentaire et isotopique (<sup>87</sup>Sr:<sup>86</sup>Sr) des otolithes de saumon Atlantique: évaluation du potentiel pour un appui à la gestion piscicole dans le bassin de l'Adour. In: Université de Pau et des Pays de l'Adour, p. 241.
- Martin J., Bareille G., Beraïl S., Pecheyran C., Daverat F., Bru N., Tabouret H. & Donard O.F.X. (2013). Spatial and temporal variations in otolith chemistry and relationships with water chemistry: a useful tool to distinguish Atlantic salmon *Salmo salar* parr from different natal streams. *Journal of Fish Biology*, 82, 1556-81.
- Mayes J. (2007). Weather news. *Weather*, 62, 230.
- McCormick M.I. (1999). Delayed metamorphosis of a tropical reef fish (*Acanthurus triostegus*): a field experiment. *Marine Ecology Progress Series*, 176, 25-38.

- Meekan M.G., dodson J.J., Good S.P. & Ryan D.A.J. (1998). Otolith and fish size relationships, measurement error, and size-selective mortality during the early life of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences*, 55, 1663-1673.
- MeteoFrance (2012). Données climatologiques de l'île de La Réunion enregistrées par le service national MétéoFrance
- Meunier B., Dumas E., Piec I., Bechet D., Hebraud M. & Hocquette J.-F. (2006). Assessment of hierarchical clustering methodologies for proteomic data mining. *Journal of Proteome Reserach*, 6, 358-366.
- Middag R. (2010). Dissolved aluminium and manganese in the polar oceans. University Library Groningen.
- Milicich M.J. & Doherty P.J. (1994). Larval supply of coral reef fish populations: magnitude and synchrony of replenishment to Lizard Island, Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress*, 110, 121-134.
- Miller J.A. (2011). Effects of water temperature and barium concentration on otolith composition along a salinity gradient: Implications for migratory reconstructions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 405, 42-52.
- Miller M.B., Clough A.M., Batson J.N. & Vachet R.W. (2006). Transition metal binding to cod otolith proteins. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 329, 135-143.
- Montaggioni L.F. (1978). Recherches géologiques sur les complexes récifaux de l'archipel des Mascareignes (Océan Indien occidental). In: Aix-Marseille II, p. 212p + annexes.
- Montaggioni L.F., Cornec F.L., Corrège T. & Cabioch G. (2006). Coral barium/calcium record of mid-Holocene upwelling activity in New Caledonia, South-West Pacific. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 237, 436-455.
- Montaggioni L.F. & Faure G. (1980). Les récifs coralliens des Mascareignes (Ocean Indien). Coll. Trav. Centre Univ., Univ Fr. O. Indien.
- Montgomery L.W. (1990). Zoogeography, behavior and ecology of coral-reef fishes. *Ecosystems of the world*, 25, 329-364.
- Morales-Nin B. (1985). Caractericas de los otolitos cristalinos de *Genypterus capensis*. *Invest. Pesq.*, 49, 379-386.
- Morales-Nin B., Bjelland R.M. & Moksness E. (2005). Otolith microstructure of a hatchery reared European hake (*Merluccius merluccius*). *Fisheries Research*, 74, 300-305.
- Mugiya Y. (1984). Calcium 45 behavior at the level of the otolith organs of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 40, 457-463.
- Mugiya Y. & Tanaka S. (1989). Otolith resorption induced by anaerobic stress in the goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Fish Biology*, 35, 813-818.
- Munro A.R., Gillanders B.M., Thurstan S., Crook D.A. & Sanger A.C. (2009). Transgenerational marking of freshwater fishes with enriched stable isotopes: A tool for fisheries management and research. *Journal of Fish Biology*, 75, 668-684.
- Myers R.F. (1991). Micronesian reef fishes, Guam.
- Naim O., Cuét P. & Mangar V. (2000). The Mascarene Islands. In: *Coral reefs of the Indian Ocean : their ecology and conservation* (eds. McClanahan TR, Sheppard C & Obura DO). Oxford: University Press, pp. 358-381.
- Nolf D. (1995). Studies on fossil otoliths - the state of the art. *Recent developments in fish otolith research*, 19, 513-544.
- Panfili J. (1993). Estimation de l'âge individuel des poissons : Méthodologies et applications à des populations naturelles tropicales et tempérées. In: Université de Montpellier, p. 456.
- Panfili J., Pontual H.D., Troadec H. & Wright P.J. (2002a). *Manual of fish sclerochronology*. IRD, Ifremer edn. IRD, Ifremer.
- Panfili J., Pontual H.D., Troadec H. & Wright P.J. (2002b). *Manuel de sclérochronologie des poissons*. IRD, Ifremer edn.

- Pannella G. (1980). Growth pattern in fish sagittae. In: Skeletal growth of aquatic organisms (eds. Rhoads DC & Lutz RA). Plenum Press New York, USA and London, UK, pp. 519-560.
- Patterson H.M. & Kingsford M.J. (2005). Elemental signatures of *Acanthochromis polyacanthus* otoliths from the Great Barrier Reef have significant temporal, spatial, and between-brood variation. *Coral Reefs*, 24, 360-369.
- Patterson H.M., Kingsford M.J. & McCulloch M.T. (2004a). Elemental signatures of *Pomacentrus coelestis* otoliths at multiple spatial scales on the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 270, 229-239.
- Patterson H.M., Kingsford M.J. & McCulloch M.T. (2004b). The influence of oceanic and lagoonal plume waters on otolith chemistry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61, 898-904.
- Patterson H.M., Kingsford M.J. & McCulloch M.T. (2005). Resolution of the early life history of a reef fish using otolith chemistry. *Coral Reefs*, 24, 222-229.
- Patterson H.M., McBride R.S. & Julien N. (2004c). Population structure of red drum (*Sciaenops ocellatus*) as determined by otolith chemistry. *Marine Biology*, 144, 855-862.
- Patterson H.M. & Swearer S.E. (2007). Long-distance dispersal and local retention of larvae as mechanisms of recruitment in an island population of a coral reef fish. *Austral Ecology*, 32, 122-130.
- Patterson H.M., Thorrold S.R. & Shenker J.M. (1999). Analysis of otolith chemistry in Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) from the Bahamas and Belize using solution-based ICP-MS. *Coral Reefs*, 18, 171-178.
- Payan P., De Pontual H., Bœuf G. & Mayer-Gostan N. (2004). Endolymph chemistry and otolith growth in fish. *Comptes Rendus Palevol*, 3, 535-547.
- Pecheyran C. (2009). LA-ICPMS functions. In: Pau, France.
- Pickhardt C., Dietze H.-J. & Becker J.S. (2005). Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for direct isotope ratio measurements on solid samples. *International Journal of Mass Spectrometry*, 242, 273-280.
- Planes S., Jones G.P. & Thorrold S.R. (2009). Larval dispersal connects fish populations in a network of marine protected areas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 5693-5697.
- Planes S. & Lecaillon G. (2001). Caging experiment to examine mortality during metamorphosis of coral reef fish larvae. *Coral Reefs*, 20, 211-218.
- Platt C. & Popper A.N. (1981). Structure and function in the ear. In *Hearing and sound communication in Fishes* Tavolga, W.N., Popper, A.N. & Fay, R.R. edn. Springer, New York, USA.
- Popper A.N., Ramcharitar J. & Campana S.E. (2005). Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. *Marine and Freshwater Research*, 56, 497-504.
- Pothin K. (2005). Analyse de la dispersion larvaire des poissons récifaux à La Réunion à travers l'étude de leurs otolithes. In: Université de La Réunion Saint Denis, p. 236.
- Pothin K., Letourneur Y. & Lecomte-Finiger R. (2004). Age, growth and mortality of the tropical grouper *Epinephelus merra* (Pisces, Serranidae) on Réunion Island, SW Indian Ocean. *Vie et Milieu*, 54, 193-202.
- Pothin K., Tessier E., Chabanet P. & Lecomte-Finiger R. (2006). Traits de vie et croissance larvaire de *Gnathodentex aurolineatus* (Lethrinidae) avant et après installation dans une baie de l'île de La Réunion (SO océan Indien). *Cybiurn*, 30, 27-33.
- Prouty N.G., Field M.E., Stock J.D., Jupiter S.D. & McCulloch M.T. (2010). Coral Ba/Ca records of sediment input to the fringing reef of the southshore of Moloka'i, Hawai'i over the last several decades. *Marine Pollution Bulletin*, 60, 1822-1835.
- Quinitio G.F. & Toledo J.D. (1991). Mariculture techniques for *Epinephelus* sp. in the Philippines. In: First Philippine-French Technical Workshop on Advances in Finfish and Shellfish Mariculture Los Baños, Laguna, Philippines, pp. 94-106.

- R Development Core Team (2009). R: A language and Environment for Statistical Computing. In. R foundation for Statistical Computing Vienna, Austria.
- Radtke R.L. & Dean J.M. (1982). Increment formation in the otoliths of embryos larvae and juveniles of the nummichog *Fundulus heteroclitus*. Fish. Bull. U.S., 80, 201-215.
- Ranaldi M.M. & Gagnon M.M. (2008). Zinc incorporation in the otoliths of juvenile pink snapper (*Pagrus auratus* Forster): The influence of dietary versus waterborne sources. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 360, 56-62.
- Randall J.E. (1956). A Revision of the Surgeon Fish Genus *Acanthurus*. Pacific Science, 10, 159-235.
- Randall J.E. (1986). *Acanthuridae*. In: Smiths' sea fishes (ed. Heemstra MMSaPC). Springer-Verlag Berlin, pp. 811-823.
- Randall J.E. (1997). Randall's underwater photos. Collection of almost 2,000 underwater photos. In: Unpublished.
- Randall J.E. & Heemstra P.C. (1991). Revision of Indo-Pacific groupers of the world (Perciformes: Serranidae, Epinephelinae), with description of five new species. Indo-Pacific fishes edn.
- Randall J.E. & Heemstra P.C. (1993). FAO species catalogue, groupers of the world (Family: Serranidae; sub-Family: Epinephelinae) and annotated and illustrated catalogue of the group, rock cod, coral grouper and lyretail species known to date. FAO Fish. Synop. edn.
- Rauby T. (2006). Premiers éléments d'étude de la colonisation larvaire des poissons de récif corralien à Suva, Fiji. In. EPHE.
- Riou A. (2009). Analyse de la structure des populations d'*Epinephelus merra* (Poisson Serranidae) à partir de signatures chimiques des otolithes, au sein de la Réserve Naturelle Marine de La Réunion. p. 93.
- Riou A. (2010). Analyse de la structure des populations d'*Epinephelus merra* (Poisson Serranidae) à partir de signatures chimiques des otolithes, au sein de la Réserve Naturelle Marine de La Réunion. Complément de données au stage de Master 2 (Avril-Août 2009). p. 19.
- Riou A., Bareille G., Morat F., Pothin K., Bru N. & Chabanet P. (2016). The usefulness of otolith chemistry to determine the life history of the honeycomb grouper around Reunion Island (SW Indian Ocean). Research Fisheries, 179, 104-114.
- Riou A., Bareille G., Pothin K., Bru N., Pécheyran C. & Chabanet P. (submitted). Variability in the larval histories of reef fish species at Reunion Island. Fisheries Research.
- Rooker J.R., Secor D.H., DeMetrio G., Kaufman A.J., Belmonte Ríos A. & Tičina V. (2008). Evidence of trans-Atlantic movement and natal homing of blue tuna from stable isotopes in otoliths. Marine Ecology Progress Series, 368, 231-239.
- Rooker J.R., Secor D.H., Zdanowicz V.S., De Metrio G. & Orsi Relini L. (2003). Identification of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) stocks from putative nurseries using otolith chemistry. Fisheries Oceanography, 12, 75-84.
- Rooker J.R., Secor D.H., Zdanowicz V.S. & Itoh T. (2001). Discrimination of northern bluefin tuna from nursery areas in the Pacific Ocean using otolith chemistry. Marine Ecology Progress Series, 218, 275-282.
- Roughgarden J., Gaines S.D. & Possingham H.P. (1988). Recruitment dynamics in complex life cycles. Science, 241, 1460-1466.
- Royston P. (1982a). Algorithm AS 181: The W test for Normality. Applied Statistics, 31, 176-180.
- Royston P. (1982b). An extension of Shapiro and Wilk's W test of normality to large samples. Applied Statistics, 31, 115-124.
- Royston P. (1995). Remark AS R94: A remark on Algorithm AS 181: The W test for normality. Applied Statistics, 44, 547-551.
- Russ J.C. (1990). Computer-assisted microscopy : the measurement and analysis of images., p453.
- Ruttenberg B.I., Hamilton S.L., Hickford J.H., Paradis G., Sheeny M., Standish J.D., Ben-Tzi O. & Warner R.R. (2005). Elevated levels of trace elements in cores of otoliths and their potential use as natural tags. Marine Ecology Progress Series, 297, 273-281.

- Ruttenberg B.I., Hamilton S.L. & Warner R.R. (2008). Spatial and temporal variation in the natal otolith chemistry of a Hawaiian reef fish: prospects for measuring population connectivity. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65, 1181-1192.
- Sadovy Y. & Severin K.P. (1992). Trace elements in biogenic aragonite: correlation of body growth rate and strontium levels in the otoliths of the white grunt, *Haemulon plumieri* (Pisces: Haemulidae). *Bulletin of Marine Science*, 50, 237-257.
- Sadovy Y. & Severin K.P. (1994). Elemental patterns in red hind (*Epinephelus guttatus*) otoliths from Bermuda and Puerto Rico reflect growth rate, not temperature. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 133-141.
- Sale P.F., Van Lavieren H., Ablan Lagman M.C., Atema J., Butler M., Fauvelot C., Hogan J.D., Jones G.P., Lindeman K.C., Paris C.B., Steneck R.S. & Stewart H.L. (2010). Preserving reef connectivity: a handbook for Marine Protected Area Managers. Connectivity Working Group, Coral Reef Targeted Research & Capacity Building for Management Program, UNU-INWEH.
- Schott F.A., Dengler M. & Schoenfeldt R. (2002). The shallow overturning circulation of the Indian Ocean. *Progress in Oceanography*, 53, 57-103.
- Secor D.H., Dean J.M. & Laban E.H. (1992). Otolith removal and preparation for microstructural examination. In: *Otolith microstructure and analyses* (eds. Stevenson DK & Campana SE). Canadian Special Publication for Fisheries and Aquatic Sciences Ottawa, Canada, pp. 19-57.
- Secor D.H., Henderson-Arzapalo A. & Piccoli P.M. (1995). Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 192, 15-33.
- Secor D.H., Ohta T., Nakayama K. & Tanaka M. (1998). Use of otolith microanalysis to determine estuarine migrations of Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus* distributed in the Ariake Sea. *Fisheries Science*, 64, 740-743.
- Seyama H. (2003). Application of SIMS to the analysis of environmental samples. *Applied Surface Science*, 203-204, 745-750.
- Shaw T.J., Moore W.S., Kloepfer J. & Sochaski M.A. (1998). The flux of barium to the coastal waters of the southeastern USA: The importance of submarine groundwater discharge. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 3047-3054.
- Shima J.S. & Findlay A.M. (2002). Pelagic larval growth rate impacts benthic settlement and survival of a temperate reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 235, 303-309.
- Shima J.S., Noonburg E.G. & Swearer S.E. (2015). Consequences of variable larval dispersal pathways and resulting phenotypic mixtures to the dynamics of marine metapopulations. *Biology Letters*, 11, 20140778.
- Shima J.S. & Swearer S.E. (2009a). Larval quality shaped matrix connectivity metapopulation. *Ecology*, 90, 1255-1267.
- Shima J.S. & Swearer S.E. (2009b). Spatially variable larval histories may shape recruitment rates of a temperate reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 394, 223-229.
- Shima J.S. & Swearer S.E. (2010). The legacy of dispersal: larval experience shapes persistence later in the life of a reef fish. *J Anim Ecol*, 79, 1308-14.
- Shima J.S. & Swearer S.E. (2015). Evidence and population consequences of shared larval dispersal histories in a marine fish. *Ecology*.
- Shulman M.J. & Bermingham E. (1995). Early Life Histories, Ocean Currents, and the Population Genetics of Caribbean Reef Fishes. *Evolution*, 49, 897-910.
- Simkiss K. (1974). Calcium metabolism of fish in relation to ageing. In: *The ageing of fish*, Old working (ed. Bagenal TB) Surrey, England, pp. 1-12.
- Sinclair D.J. & McCulloch M.T. (2004). Corals record low mobile barium concentrations in the Burdekin River during the 1974 flood: evidence for limited Ba supply to rivers? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 214, 155-174.
- Smith M.M. & Heemstra P.C. (1986). *Smith's sea's fishes*, Berlin.



- Soyano K., Masumoto T., Tanaka H., Takushima M. & Nakamura M. (2003). Lunar-related spawning in honeycomb grouper, *Epinephelus merra*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28, 447-448.
- Sponaugle S., Grorud-Colvert K. & Pinkard D. (2006). Temperature-mediated variation in early life history traits and recruitment success of the coral reef fish *Thalassoma bifasciatum* in the Florida Keys. *Mar Ecol Prog Ser*, 308, 1-15.
- Sturrock A.M., Trueman C.N., Darnaude A.M. & Hunter E. (2012). Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes? *Journal of Fish Biology*, 81, 766-795.
- Sumaila U.R., Marsden A.D., Watson R. & Pauly D. (2007). A global ex-vessel fish price database: construction and applications. *Journal of Bioeconomics*, 9, 39-51.
- Swearer S.E., Caselle J.E., Lea D.W. & Warner R.R. (1999). Larval retention and recruitment in an island population of a coral reef fish. *Nature*, 402, 799-802.
- Swearer S.E., Shima J.S., Hellberg M.E., Thorrold S.R., Jones G.P., Robertson D.R., Morgan S.G., Selkoe K.A., Ruiz G.M. & Warner R.R. (2002). Evidence of self-recruitment in demersal marine populations. *Bulletin of Marine Science*, 70, 251-271.
- Tabouret H. (2009). Recherche des marqueurs d'exposition aux contaminants et fréquentation des habitats chez l'anguille *Anguilla anguilla* de l'estuaire de l'Adour : de la réponse moléculaire à la microchimie de l'otolithe. In: *Environnement et Matériaux*. Université de Pau et des Pays de l'Adour, p. 334.
- Tabouret H., Bareille G., Claverie F., Pecheyran C., Prouzet P. & Donard O.F.X. (2010). Simultaneous use of strontium:calcium and barium:calcium ratios in otoliths as markers of habitat: application to the European eel (*Anguilla anguilla*) in the Adour basin, South West France. *Marine Environmental Research*, 70, 35-45.
- Taillebois L., Maeda K., Vigne S. & Keith P. (2012). Pelagic larval duration of three amphidromous Sicydiinae gobies (Teleostei: Gobioidae) including widespread and endemic species. *Ecology of Freshwater Fish*, 21, 552-559.
- Taquet M. (2004). Le comportement agrégatif de la dorade coryphène (*Coryphaena hippurus*) autour des objets flottants. In: *Océanologie biologique*. Paris 6, p. 168.
- Taquet M. & Diringer A. (1992). *Mérous de l'Océan Indien*. Azalées edn, Saint-Denis.
- Taquet M. & Diringer A. (2007). *Poissons de l'océan Indien et de la mer Rouge*. Quae edn, Versailles.
- Tedetti M., Cuet P., Guigue C. & Goutx M. (2011). Characterization of dissolved organic matter in a coral reef ecosystem subjected to anthropogenic pressures (La Reunion Island, Indian Ocean) using multi-dimensional fluorescence spectroscopy. *The Science of the total environment*, 409, 2198-210.
- Thorisson K., Jonsdottir I.G., Marteinsdottir G. & Campana S.E. (2011). The use of otolith chemistry to determine the juvenile source of spawning cod in Icelandic waters. *ICES Journal of Marine Science*, 68, 98-106.
- Thorrold S.R., Jones C.M., Campana S.E., McLaren J.W. & Lam J.W.H. (1998a). Trace element signatures in otoliths record natal river of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Limnology and Oceanography*, 43, 1826-1835.
- Thorrold S.R., Jones C.M., Swart P.K. & Targett T.E. (1998b). Accurate classification of juvenile weakfish *Cynoscion regalis* to estuarine nursery areas based on chemical signatures in otoliths. *Marine Ecology Progress Series*, 173, 253-265.
- Thorrold S.R., Latkoczy C., Swart P.K. & Jones C.M. (2001). Natal homing in a marine fish metapopulation. *Science*, 291, 297-299.
- Thresher R.E. (1999). Elemental composition of otoliths as a stock delineator in fishes. *Fisheries Research*, 43, 165-204.
- Thresher R.E., Colin P.L. & Bell L.J. (1989). Planktonic Duration, Distribution and Population Structure of Western and Central Pacific Damselfishes (Pomacentridae). *Copeia*, 2, 420-434.
- Tomczak M. & Godfrey J. (1994). *Regional Oceanography: an Introduction* Pergamon. Oxford.

- Townsend D.W., Radtke R.L., Malone D.P. & Wallinga J.P. (1995). Use of otolith strontium:calcium ratios for hindcasting larval cod *Gadus morhua* distributions relative to water masses on Georges Bank. *Marine Ecology Progress Series*, 119, 37-44.
- Tresher R.E., Colin P.L. & Bell L.J. (1989). Planktonic duration, distribution and population structure of Western and central Pacific damselfishes (Pomacentridae). *Copeia*, 2, 420-434.
- Troadec R. (1991). Courantologie et sédimentologie des baies de Saint-Paul et de la Possession à l'île de La Réunion. In: *Sciences de la Terre*. Université de La Réunion Saint-Denis, p. 217.
- Tsunagawa T., Suzuki T. & Arai T. (2010). Otolith Sr:Ca ratios of freshwater goby *Rhinogobius* sp. TO indicating absence of sea migrating traits. *Ichthyological Research*, 57, 319-322.
- Tuset V.M., Lombarte A., Gonzalez J.A., Pertusa J.F. & Lorente M.J. (2003a). Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp. *Journal of Fish Biology*, 63, 1491-1504.
- Tuset V.M., Lozano I.J., González J.A., Pertusa J.F. & García-Díaz M.M. (2003b). Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 88-93.
- Victor B.C. (1983). Recruitment and population dynamics of a coral reef fish. *Science*, 219, 419-420.
- Victor B.C. (1984). Coral reef fish larvae: Patch size estimation and mixing in the plankton. *Limnology and Oceanography*, 29, 1116-1119.
- Vigliola L. (1997). Validation of daily increment formation in otoliths for three *Diplodus* species in the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 51, 349-360.
- Vortsepneva E. (2008). Saya de Mlha Bank - en invisible island in the Indian Ocean. Geomorphology, oceanology, biology. In: *Moscow State University, Moscow, Russia*, p. 44.
- Walther B.D. & Thorrold S.R. (2006). Water, not food, contributes the majority of strontium and barium deposited in the otoliths of a marine fish. *Marine Ecology Progress Series*, 311, 125-130.
- Walther B.D. & Thorrold S.R. (2009). Inter-annual variability in isotope and elemental ratios recorded in otoliths of an anadromous fish. *Journal of Geochemical Exploration*, 102, 181-186.
- Wellington G.M. & Victor B.C. (1989). Planctonik larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Marine Biology (New York)*, 101, 557-567.
- Wells B.K., Rieman B.E., Clayton J.L., Horan D.L. & Jones C.M. (2003). Relationships between Water, Otolith, and Scale Chemistries of Westslope Cutthroat Trout from the Coeur d'Alene River, Idaho: The Potential Application of Hard-Part Chemistry to Describe Movements in Freshwater. *Transactions of the American Fisheries Society*, 132, 409-424.
- Wilson D.T. & McCormick M.I. (1999). Microstructure of settlement-marks in the otoliths of tropical reef fishes. *Marine Biology*, 134, 29-41.
- Woodcock S.H., Gillanders B.M., Munro A.R., McGovern F., Crook D.A. & Sanger A.C. (2011). Using enriched stable isotopes of barium and magnesium to batch mark otoliths of larval golden perch (*Macquaria ambigua*, Richardson). *Ecology of Freshwater Fish*, 20, 157-165.
- Woodcock S.H., Munro A.R., Crook D.A. & Gillanders B.M. (2012). Incorporation of magnesium into fish otoliths: Determining contribution from water and diet. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 94, 12-21.
- Wright P.J., Panfili J., Morales-Nin B. & Geffen A.J. (2002). Différents types de pièce calcifiée. A/ les otolithes. In: *Manuel de sclérochronologie des poissons* (eds. Panfili J, Pontual Hd, Troadec H & Wright PJ). Ifremer-IRD, pp. 31-57.
- Wyrtki K. (1973). Physical Oceanography of the Indian Ocean. In: *The Biology of the Indian Ocean* (eds. Zeitzschel B & Gerlach S). Springer Berlin Heidelberg, pp. 18-36.
- Yoshinaga J., Nakama A., Morita M. & Edmonds J.S. (2000). Fish otolith reference material for quality assurance of chemical analyses. *Marine Chemistry*, 69, 91-97.

## RESUME

---

La gestion des ressources alimentaires doit passer par un équilibre entre activités humaines et une exploitation raisonnée de ces ressources, objectif affiché des aires marines protégées. Sur l'île de La Réunion, la réserve naturelle marine œuvre pour le maintien des populations de poissons à forte valeur commerciale et régulièrement exploitées par les pêcheurs traditionnels comme le mérrou "macabit" (*Epinephelus merra*, Serranidae) mais dont la phase larvaire pélagique reste encore peu connue. Pour mieux appréhender cette phase, la microchimie des otolithes a été utilisée pour retracer la vie de ce mérrou, mais aussi d'autres espèces aux caractéristiques écologiques différentes (*Acanthurus triostegus*, Acanthuridae, et *Plectroglyphidodon imparipennis*, Pomacentridae) dans un objectif appliqué à la gestion.

Nos résultats ont permis de différencier la population de macabit à La Réunion en 3 groupes d'histoires de vie larvaires différentes à partir de fortes variations en baryum mesurées sur leurs otolithes, un élément trace, pouvant être enrichi dans le milieu naturel par diverses sources naturelles ou anthropiques. Ces variations chimiques sont retrouvées également chez *A. triostegus* et *P. imparipennis*. Nos résultats ont montré qu'il pouvait exister des fortes variations temporelles dans les concentrations chimiques en baryum. Dans le secteur récifal nord (Saint-Gilles et Saint-Paul), ces variations sont observées de façon significative principalement lors d'événements cycloniques. Des sources naturelles de cet élément ont pu être identifiées localement dans des eaux souterraines prélevées dans le socle basaltique poreux de l'île de La Réunion, mais aussi à l'échelle régionale, sur d'autres individus prélevés dans l'océan Indien (Maldives, Juan De Nova, Europa). Le baryum s'est ainsi révélé être un élément trace à privilégier pour l'analyse de l'histoire de vie des poissons récifaux et pour révéler les caractéristiques spatiales et temporelles de la structure de leurs populations à l'échelle de La Réunion, mais aussi potentiellement de l'océan indien occidental. Des études complémentaires biologiques, chimiques et génétiques sont néanmoins nécessaires afin d'aboutir à des connaissances permettant d'adapter des mesures de gestion aux cycles biologiques des espèces.

**Mots-Clés :** Otolithe – Microchimie – LA-ICP-MS – *Epinephelus merra* – *Acanthurus triostegus* – *Plectroglyphidodon imparipennis* – Baryum – récifs coralliens – île de La Réunion.

## ABSTRACT

---

Food resources must be managed between human activities and sustainable exploitation, objective of marine protected areas. On Reunion Island, the marine park works more specifically to maintain fish populations with high commercial value, regularly exploited by traditional fishermen, such as the grouper *Epinephelus merra* (Serranidae) which pelagic larval phase remains unknown. To better understand this phase, the otolith microchemistry was used to trace the life histories of this grouper as well as other reef species (*Acanthurus triostegus*, Acanthuridae, and *Plectroglyphidodon imparipennis*, Pomacentridae) for management purposes.

Our results allowed differentiating grouper population in Reunion in 3 different groups of larval life histories, using barium concentration in their otoliths which can be enriched in the environment by various natural or anthropogenic sources. These chemical changes are also found in *A. triostegus* and *P. imparipennis* with different ecological characteristics. Our results showed that there could be strong temporal variations in chemical concentrations of barium. In the northern reef area (Saint-Gilles and Saint-Paul), these variations are observed significantly mainly during cyclonic events. Natural sources of this element could be identified locally in groundwater collected in the porous basaltic basement of the Reunion, but also at the regional level, where other individuals were collected in the Indian Ocean (Maldives Juan De Nova, Europa). Therefore barium has proven to be an interesting trace element for the analysis of the life story of reef fish, and a tool to reveal the spatial and temporal characteristics of their populations across Reunion structure but also in the Western Indian Ocean. Nevertheless biological, chemical and genetic studies are necessary to complete the knowledge and adapt management measures to the biological cycles of the species.



**Keywords :** Otolith – Microchemistry – LA-ICP-MS – *Epinephelus merra* - *Acanthurus triostegus*, *Plectroglyphidodon imparipennis* – Barium – coral reefs – Reunion Island

## LETTRE D'ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je, soussigné(e) Antoine RIOU, en ma qualité de doctorant(e) de l'Université de La Réunion, déclare être conscient(e) que le plagiat est un acte délictueux passible de sanctions disciplinaires. Aussi, dans le respect de la propriété intellectuelle et du droit d'auteur, je m'engage à systématiquement citer mes sources, quelle qu'en soit la forme (textes, images, audiovisuel, internet), dans le cadre de la rédaction de ma thèse et de toute autre production scientifique, sachant que l'établissement est susceptible de soumettre le texte de ma thèse à un logiciel anti-plagiat.

Fait à Saint-Denis, le 18 /12 / 2015



**Extrait du Règlement intérieur de l'Université de La Réunion**  
(validé par le Conseil d'Administration en date du 11 décembre 2014)

### **Article 9. Protection de la propriété intellectuelle – Faux et usage de faux, contrefaçon, plagiat**

L'utilisation des ressources informatiques de l'Université implique le respect de ses droits de propriété intellectuelle ainsi que ceux de ses partenaires et plus généralement, de tous tiers titulaires de ces droits.

En conséquence, chaque utilisateur doit :

- utiliser les logiciels dans les conditions de licences souscrites ;
- ne pas reproduire, copier, diffuser, modifier ou utiliser des logiciels, bases de données, pages Web, textes, images, photographies ou autres créations protégées par le droit d'auteur ou un droit privatif, sans avoir obtenu préalablement l'autorisation des titulaires de ces droits.

#### **La contrefaçon et le faux**

Conformément aux dispositions du code de la propriété intellectuelle, toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle d'une œuvre de l'esprit faite sans le consentement de son auteur est illicite et constitue un délit pénal.

L'article 444-1 du code pénal dispose : « Constitue un faux toute altération frauduleuse de la vérité, de nature à causer un préjudice et accomplie par quelque moyen que ce soit, dans un écrit ou tout autre support d'expression de la pensée qui a pour objet ou qui peut avoir pour effet d'établir la preuve d'un droit ou d'un fait ayant des conséquences juridiques ».

L'article L335\_3 du code de la propriété intellectuelle précise que : « Est également un délit de contrefaçon toute reproduction, représentation ou diffusion, par quelque moyen que ce soit, d'une œuvre de l'esprit en violation des droits de l'auteur, tels qu'ils sont définis et réglementés par la loi. Est également un délit de contrefaçon la violation de l'un des droits de l'auteur d'un logiciel (...) ».

**Le plagiat** est constitué par la copie, totale ou partielle d'un travail réalisé par autrui, lorsque la source empruntée n'est pas citée, quel que soit le moyen utilisé. Le plagiat constitue une violation du droit d'auteur (au sens des articles L 335-2 et L 335-3 du code de la propriété intellectuelle). Il peut être assimilé à un délit de contrefaçon. C'est aussi une faute disciplinaire, susceptible d'entraîner une sanction.

Les sources et les références utilisées dans le cadre des travaux (préparations, devoirs, mémoires, thèses, rapports de stage...) doivent être clairement citées. Des citations intégrales peuvent figurer dans les documents rendus, si elles sont assorties de leur référence (nom d'auteur, publication, date, éditeur...) et identifiées comme telles par des guillemets ou des italiques.

Les délits de contrefaçon, de plagiat et d'usage de faux peuvent donner lieu à une sanction disciplinaire indépendante de la mise en œuvre de poursuites pénales.